



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE PÚBLICA**

### **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SALADAS PREPARADAS EM RESTAURAÇÃO PÚBLICA**

Trabalho submetido por  
**Carla Helena Silva do Rosário Trindade**  
para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde  
Pública

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Madalena Oom**

**outubro de 2014**



Ao Luís Miguel,  
Afonso e António

## **AGRADECIMENTOS**

Quero expressar o meu profundo agradecimento e reconhecimento a todos aqueles que, directa ou indirectamente, contribuíram para a elaboração e realização desta tese.

Em primeiro lugar ao Director do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Prof. Doutor Manuel Medeiros, pela preocupação demonstrada para que terminasse o Mestrado em Segurança Alimentar e Saúde Pública no Instituto.

À Prof. Doutora Madalena Oom, que prontamente aceitou ser minha orientadora, contribuindo inequivocamente para a conclusão deste trabalho, pela sua disponibilidade, transmissão de conhecimentos de forma clara e esclarecedora, revisão deste trabalho e pela forma carinhosa que sempre me recebeu.

À Prof. Doutora Laurentina Pedroso, enquanto Coordenadora do Mestrado em Segurança Alimentar e Saúde Pública, que graças ao seu estímulo, muito contribuíram para a conclusão da parte curricular.

A todos os meus colegas de Mestrado, especialmente à Anabela Vitória, Helena Baptista, Isabel Dias e Victor Lopes, pelo espírito de equipa e de entre ajuda demonstrada no decorrer da fase curricular.

À Empresa AQUIMISA, especialmente ao Eng.º Victor Lopes por ter disponibilizado o Laboratório e os recursos necessários para a realização da parte experimental deste estudo e por ter disponibilizado dados importantes utilizados neste estudo.

À empresa SALIFORP, especialmente à Eng.ª Isabel Dias por ter disponibilizado dados importantes utilizados neste estudo.

À Escola de Hotelaria e Turismo de Lisboa e à Avalforma, pelas facilidades concedidas para a realização dos inquéritos; e a todos os profissionais entrevistados, os meus agradecimentos, pela disponibilidade demonstrada.

À Dra. Maria do Rosário Novais, à Dra. Cristina Belo e à Dra. Rosália Furtado, pela disponibilidade, profissionalismo e ajuda demonstrada na pesquisa de bibliografia fundamental na elaboração desta tese.

A todos os responsáveis das unidades de restauração onde foram realizadas as recolhas de amostras utilizadas para este estudo e a todos os funcionários que me acolheram com simpatia e curiosidade em horários muito atarefados.

À minha família e amigos por estarem sempre presentes na minha vida.

E por último, mas os primeiros no meu coração, ao meu marido Luís Miguel e aos meus filhos Afonso e António, por estarem sempre comigo, acreditarem em mim e apoiarem-me incondicionalmente, e a quem roubei tempos preciosos das suas companhias.

A todos Muito Obrigada!

## RESUMO

A Qualidade e a Segurança dos Alimentos constituem uma preocupação importante e actual de consumidores, produtores e autoridades nacionais e europeias. Assim sendo, compete à produção e distribuição o fornecimento de produtos alimentares de boa qualidade higiénica e segura para os consumidores. Neste contexto, os vegetais frescos merecem especial atenção, uma vez que são facilmente alterados pela flora de contaminação, e podem conter bactérias potencialmente patogénicas.

Deste modo, o objectivo deste trabalho consiste na avaliação da segurança microbiológica de saladas preparadas na restauração pública e inquirir profissionais do sector sobre as saladas e a sua percepção em relação aos riscos que as mesmas representam para a saúde dos consumidores.

Recorrendo a métodos convencionais, procedeu-se à caracterização microbiológica de vegetais, em 279 amostras de alface (173) e de cenoura (106), tendo-se determinado o teor de microrganismos totais a 30°, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes*. Simultaneamente foi realizado um inquérito de opinião a 153 manipuladores de alimentos, os quais têm nas suas funções diárias a preparação de saladas de vegetais crus.

Do universo global analisado e de acordo com os critérios de apreciação seguidos, 73% das amostras de salada de alface e 88% da salada de cenoura foram consideradas não satisfatórias, devido ao elevado número de microrganismos totais a 30 °C e *Enterobacteriaceae*.

Em relação aos inquéritos realizados, os resultados demonstram um profundo desconhecimento dos inquiridos sobre as saladas e os riscos que as mesmas podem representar para a saúde pública.

A contaminação dos vegetais revela a necessidade de implementar sistemas de segurança alimentar eficazes e da formação dos manipuladores de alimentos a fim de reduzir os riscos associados ao consumo de saladas.

**Palavras-Chave:** Segurança Alimentar, Qualidade Microbiológica, Saladas de Vegetais Crus e Restauração.

## **ABSTRACT**

Quality and Food Safety is a major current concern of consumers, producers and national and European authorities. Therefore, the production and distribution have the responsibility to supply food products with high hygienic quality that are safe for consumers. In this context, fresh vegetables deserve special attention because are easily altered by the flora of contamination and may also contain potentially pathogenic bacteria.

Thus, this work aims to assess the microbiological safety of salads prepared in restaurants and to evaluate the food-handlers practices in preparing salads as well as their perception about the risks salads pose to the health of consumers.

Using standard methods, 279 lettuce samples and 106 carrot samples, were analyzed for total 30 °C microorganisms, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, and *Listeria monocytogenes*. In parallel, an opinion survey was conducted with 153 food-handlers, which have in their daily functions preparing salads of raw vegetables.

The results showed that, according to the legal criteria, 73% of the lettuce samples and 88% of the carrot salad samples were considered not satisfactory due to the high number of total aerobic microorganisms, *Enterobacteriaceae*. The survey results pointed to a profound ignorance about the risks fresh salads may pose to public health.

Contamination of fresh vegetables reveals the need to implement effective food safety systems and food handlers education in order to reduce the risks associated with the consumption of salad.

**Keywords:** Food Security, Microbiological Quality, fresh Vegetables and Restoration.

## ÍNDICE GERAL

	página
Índice de Figuras	8
Índice de Tabelas	8
Índice de Gráficos	8
<b>1. Introdução</b>	<b>11</b>
1.1. Doenças transmitidas por alimentos	15
1.1.1. Condições para ocorrência de doenças transmitidas por alimentos	18
1.1.2. Dose Infecciosa	18
1.1.3. Vigilância de doenças de origem alimentar	20
1.1.4. Doenças de origem alimentar em Portugal	22
1.1.4.1. Toxinfecções alimentares em Portugal	22
1.1.4.2. Factores associados às toxinfecções alimentares	23
1.1.4.3. Registos de ocorrência em Portugal	23
1.1.4.3.1. Notificações por agentes causadores	24
1.1.4.3.2. Notificações por alimentos contaminados	24
1.1.4.3.3. Notificações por local de ocorrência	25
1.2. Microbiologia dos vegetais	27
1.2.1. Contaminação microbiana dos vegetais	27
1.2.2. Microrganismos estudados	28
1.2.2.1. Microrganismos patogénicos	29
1.2.2.1.1. <i>Salmonella spp</i>	30
1.2.2.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	32
1.2.2.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	35
1.2.2.2. Microrganismos indicadores de higiene	37
1.2.2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	38
1.2.2.2.2. <i>Enterobacteriaceae</i>	40
1.2.2.2.3. Microrganismos totais a 30° C	40
1.3. Ferramentas de gestão da segurança alimentar	41
1.3.1. Boas práticas de fabrico e boas práticas de higiene	41
1.3.2. Análise de perigos e controlo dos pontos críticos	42
1.3.2.1. Metodologia de implementação do HACCP	45

	página
1.3.3. Avaliação do risco microbiológico	46
1.3.3.1. Identificação dos perigos	46
1.3.3.2. Avaliação da exposição	47
1.3.3.3. Caracterização do perigo	47
1.3.3.4. Caracterização do risco	47
1.4. Objectivos	49
<b>2. Materiais e Métodos</b>	
2.1. Amostras	51
2.1.1. Recolha de amostras	51
2.1.2. Transporte das amostras	52
2.1.3. Análises microbiológicas	53
2.1.4. Preparação das amostras	53
2.1.5. Análise das Amostras	57
2.1.5.1. Pesquisa de <i>Salmonella spp</i>	57
2.1.5.2. Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	58
2.1.5.3. Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva	60
2.1.5.4. Contagem de <i>Escherichia coli</i>	61
2.1.5.5. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	61
2.1.5.6. Contagem de microrganismos totais a 30° C	62
2.1.6. Lavagem e esterilização do material	63
2.1.7. Preparação e armazenagem dos meios de cultura e diluentes	63
2.2. Inquérito	63
2.2.1. Obtenção de dados	63
2.2.1.1. Questionários	64
<b>3. Resultados e Discussão</b>	
3.1. Resultados analíticos	65
3.1.1. Resultados das amostras analisadas	66
3.1.2. Resultados das amostras fornecidos	70
3.1.3. Discussão dos resultados	74
3.1.3.1. <i>Salmonella spp</i>	74



	página
3.1.3.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	75
3.1.3.3. <i>Escherichia coli</i>	76
3.1.3.4. <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	77
3.1.3.5. <i>Enterobacteriaceae</i>	78
3.1.3.6. Microrganismos totais a 30°	79
3.2. Resultados a inquéritos	82
<b>4. Conclusões</b>	91
<b>Referências Bibliográficas</b>	95

## **Anexos**

Anexo I. Exemplo de um plano de HACCP a aplicar na preparação de saladas a consumir a cru

Anexo I A. Fluxograma

Anexo I B. Análise de perigos e determinação dos PCC`s

Anexo I C. Plano HACCP

Anexo II. Inquérito

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

página

<b>Figura n.º 1</b> - Diferenciação de perigos não significativos e significativos, e decisão sobre o respectivo controlo, através de pré-requisitos ou plano HACCP	45
<b>Figura n.º 2</b> - Preparação da suspensão mãe e pré-enriquecimentos	55
<b>Figura n.º 3</b> - Preparação das diluições das amostras de alface	56

## **ÍNDICE DE TABELAS**

<b>Tabela n.º 1</b> - Doses de alguns microrganismos patogénicos necessárias para causarem enfermidade em adultos saudáveis	20
<b>Tabela n.º 2</b> - Resultados das análises microbiológicas à alface	67
<b>Tabela n.º 3</b> - Resultados das análises microbiológicas à cenoura	68
<b>Tabela n.º 4</b> - Resultados das análises microbiológicas à alface fornecidos	70
<b>Tabela n.º 5</b> - Resultados das análises microbiológicas à cenoura fornecidos	73

## **ÍNDICE DE GRÁFICOS**

<b>Gráfico n.º 1</b> - Agentes Etiológicos responsáveis por Toxinfecções Alimentares – 2008 a 2011	24
<b>Gráfico n.º 2</b> - Surtos de doenças alimentares, por alimentos contaminados, na região de Lisboa – 2008 a 2011	25
<b>Gráfico n.º 3</b> – Surtos por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado – 2009-2012	26
<b>Gráfico n.º 4</b> – Surtos por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado – 2009-2012 e 2013	26
<b>Gráfico n.º 5</b> - Apreciação das saladas de alface, segundo o Reg. n.º 2073/2005	69
<b>Gráfico n.º 6</b> - Apreciação das saladas de alface, segundo os valores guia do INSA	69
<b>Gráfico n.º 7</b> - Apreciação das saladas de cenoura, segundo o Reg. n.º 2073/2005	69
<b>Gráfico n.º 8</b> - Apreciação das saladas de cenoura, segundo os valores guia do INSA	69
<b>Gráfico n.º 9</b> - Apreciação das saladas de alface, segundo o Reg. n.º 2073/2005	74
<b>Gráfico n.º 10</b> - Apreciação das saladas de cenoura, segundo o Reg. n.º 2073/2005	74
<b>Gráfico n.º 11</b> – Contagem de <i>E. coli</i> na salada de alface e de cenoura	77

<b>Gráfico n.º 12</b> - Presença de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> nas saladas de alface e de cenoura	78
<b>Gráfico n.º 13</b> – Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na salada de alface e de cenoura	79
<b>Gráfico n.º 14</b> – Contagem microrganismos aeróbios totais na salada de alface e de cenoura	81
<b>Gráfico n.º 15</b> – Avaliação Microbiológica das Saladas	81
<b>Gráfico n.º 16</b> – Formação em Higiene e Segurança Alimentar	83
<b>Gráfico n.º 17</b> – Motivo da Frequência na acção de formação	83
<b>Figura n.º 18</b> – Tempo de actividade profissional na área onde exerce actividade actualmente	83
<b>Gráfico n.º 19</b> – Condições de climatização das cozinhas/zonas de preparação	84
<b>Gráfico n.º 20</b> – Zona de preparação de saladas	84
<b>Gráfico n.º 21</b> – Utilização de vegetais (saladas) minimamente processadas	85
<b>Gráfico n.º 22</b> – Frequência de utilização de vegetais (saladas) minimamente processadas	85
<b>Gráfico n.º 23</b> – Desinfecção dos legumes que vão ser distribuídos no estado cru	86
<b>Gráfico n.º 24</b> – Frequência da Desinfecção dos legumes que vão ser distribuídos no estado cru	86
<b>Gráfico n.º 25</b> – Utilização de tábuas de corte e facas específicas na preparação de saladas	87
<b>Gráfico n.º 26</b> – Capacidade de manutenção a frio das saladas após a preparação	87
<b>Gráfico n.º 27</b> – Utilização de tábuas de corte e facas específicas na preparação de saladas	88
<b>Gráfico n.º 28</b> – Tempo que medeia entre a preparação das saladas e a sua utilização/distribuição	88
<b>Gráfico n.º 29</b> – Destino das saladas preparadas no final do serviço	88
<b>Gráfico n.º 30</b> – Avaliação do risco de vários tipos de saladas/produtos utilizados na preparação de saladas	89
<b>Gráfico n.º 31</b> – Sistema de Segurança Alimentar	90
<b>Gráfico n.º 32</b> – Controlo analítico das saladas produzidas e distribuídas nas unidades	90
<b>Gráfico n.º 33</b> – Recolha de amostras testemunhas de saladas	91

## **ABREVIATURAS**

**ATP** – Água Peptonada Tamponada

**ARM** – Avaliação do Risco Microbiológico

**BPH** – Boas Práticas de Higiene

**BPF** – Boas Práticas de Fabrico

**CAC** – Codex Alimentarius Commission

**CDC** – Centers for Disease Control and Prevention

**EFSA** – European Authority for Food Safety

**EUA** – Estados Unidos da América

**FAO** – Food and Agriculture Organization

**FDA** – Food and Drug Administration

**HACCP** – Hazard Analysis and Critical Control Point

**HSA** – Higiene e Segurança Alimentar

**ICMSF** – Internacional Commission on Microbiological Specification for Foods

**INSA** – Instituto Nacional de Saúde Pública Dr. Ricardo Jorge

**IPAC** – Instituto Português de Acreditação

**ISO** – International Organization for Standardization

**NACMCF** - National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods

**NP** – Norma Portuguesa

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**PC** – Ponto de Controlo

**PCC** – Ponto Crítico de Controlo

**ppm** – Parte por milhão

**WHO** – World Health Organization

**USDA** - United States Department of Agriculture

**STA** – Surto de toxinfecção alimentar

## **INTRODUÇÃO**

A segurança alimentar assume nos dias de hoje uma enorme importância. Não sendo um tema recente, uma vez que faz parte integrante do desenvolvimento do ser humano, no que concerne aos seus hábitos e costumes, é sem dúvida alguma um assunto que sempre assumiu uma importância primordial. Embora antigamente um pouco dissimulada, é actualmente um tema que se assume relevante para toda a sociedade.

A evolução sofrida por todo o sector alimentar nos últimos anos e a imperativa necessidade de a fazer acompanhar de uma legislação mais adaptada às novas realidades, levou à publicação de um vasto número de diplomas legais, tendo em conta, a defesa dos consumidores e a higiene dos géneros alimentícios, do qual se destaca o Regulamento (CE) n.º 852/2004 de 29 de Abril. No Capítulo II do referido diploma, estão descritas as obrigações gerais e específicas dos operadores económicos, nomeadamente no que respeita à recolha de amostras e controlo analítico. Por outro lado, a publicação do Regulamento (CE) n.º 2073/2004 de 15 de Novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, alterado no anexo I pelo Regulamento (CE) n.º 1441/2005 de 5 de Dezembro, permite que os critérios microbiológicos possam ser usados na validação e verificação de procedimentos do sistema de segurança alimentar. É fundamental o estabelecimento de critérios microbiológicos que definam a aceitabilidade dos processos, bem como critérios microbiológicos de segurança dos géneros alimentícios que fixem um limite, acima do qual o género alimentício deve ser considerado inaceitavelmente contaminado com os microrganismos a que os critérios se referem (Reg. n.º 2073/2005). Este diploma veio definir que “Os géneros alimentícios não devem conter microrganismos nem as suas toxinas e metabolitos em quantidades que representem um risco inaceitável para a saúde humana”.

Com a publicação do chamado “pacote de higiene”, suprimiu-se um conjunto de lacunas e vazios jurídicos, derivados de uma legislação muito sectorial, e favoreceu-se uma aplicação uniforme dos princípios de segurança, ao longo da cadeia alimentar, não descurando contudo as especificidades sectoriais.

A política comunitária, neste domínio, passou a assentar explicitamente em seis princípios base:

- Um elevado nível de protecção da saúde humana
- O recurso à análise de risco
- A adopção de critérios microbiológicos e de controlo de temperatura
- A elaboração e implementação de códigos de boas práticas de higiene
- O controlo da higiene dos géneros alimentícios por parte das autoridades competentes
- A responsabilidade de todos os operadores da cadeia alimentar na comercialização dos géneros alimentícios

As regras gerais e específicas de higiene dos géneros alimentícios têm como principal objectivo, garantir um elevado nível de protecção dos consumidores, e consequentemente da saúde pública, no que respeita à segurança dos produtos. Como tal, é obrigação dos operadores económicos do sector alimentar, assegurarem que todas as fases de produção, transformação e comercialização de géneros alimentícios sob o seu controlo satisfaçam os requisitos pertinentes em matéria de higiene.

Perante consumidores cada vez mais esclarecidos, e consequentemente mais exigentes, é da responsabilidade de todos os que intervêm na cadeia alimentar colocar à disposição do consumidor somente alimentos cujas condições de higiene e segurança sejam devidamente garantidas.

A alimentação é cada vez mais um fenómeno que se realiza fora de casa, e também em diferentes contextos e situações, trabalho, negócios, lazer, entre outras. É sem dúvida, um aspecto que ganha importância enquanto produto de oferta turística.

Um dos sectores de actividade económica com maior impacto junto do consumidor é, sem dúvida, o da restauração pública. É um sector em que a oferta não pára de crescer, à medida que as trocas comerciais se intensificam e em que a qualidade é, também aqui, reclamada por quem consome.

As toxinfecções alimentares são um grave problema de saúde pública a nível global, não só nos países desenvolvidos, como também nos países em vias de desenvolvimento.

Formas de comer que, além do prazer gastronómico possam enquadrar-se no âmbito de uma alimentação saudável e rica em substâncias protectoras, face às doenças crónico-degenerativas, são já procuradas e com tendência a aumentar consideravelmente num futuro próximo. Isto constitui um grande desafio para um turismo e uma restauração de qualidade, que deverá apostar na excelência das matérias-primas que utiliza, sob o ponto de vista higio-sanitário e nutricional, para além de ter como objectivo primordial a máxima higiene e qualidade em todo o processo produtivo.

Os estabelecimentos de restauração têm sido frequentemente associados a surtos de toxinfecções alimentares. A larga disseminação dos contaminantes nos alimentos, principalmente os perigos microbiológicos, que têm vindo a originar incidentes de extrema gravidade e elevado risco para a saúde dos consumidores, passou a exigir a implementação de sistemas que visem garantir a segurança dos alimentos e dos seus consumidores.

A maior parte destes acidentes e surtos prende-se com uma incorrecta manipulação e/ou tratamento durante a preparação e/ou no armazenamento dos alimentos. Este é um dos aspectos críticos para a restauração, em geral, e para a restauração pública em particular, na medida em que a comercialização de produtos contaminados pode ter um considerável impacto no que diz respeito à saúde dos consumidores e, consequentemente, também contribuir para elevados prejuízos sob o ponto de vista económico.

Nesta nova era da segurança alimentar, os operadores económicos são confrontados com a obrigatoriedade de implementar sistemas de segurança alimentar, baseados nos princípios do HACCP (Hazards Analysis and Critical Control Points). Estes princípios baseiam-se numa abordagem sistemática e estruturada de identificação de perigos e da probabilidade da sua ocorrência em todas as etapas de produção de alimentos, e definem estratégias para o seu controlo efectivo. É um sistema preventivo que permite uma gestão proactiva dos perigos para segurança alimentar, sendo da inteira responsabilidade dos operadores económicos a sua implementação. É de salientar que todos aqueles que manipulam alimentos têm de possuir formação adequada às funções que desempenham. Até se atingir a tão desejada segurança dos alimentos, desde o prado até ao prato, ainda se tem um longo caminho a percorrer.

A tarefa não é fácil, principalmente quando se trata do sector da restauração que, em Portugal representa cerca de 30 000 unidades, com características muito peculiares, nomeadamente no que concerne a infra-estruturas, dimensões, qualificação e rotatividade de pessoal.

Em Portugal, o consumo de saladas de vegetais crus tem vindo a aumentar consideravelmente nas últimas décadas, não só na época de verão, época do ano em que existe maior apetência para o consumo de refeições mais ligeiras, mas também ao longo de todo o ano, resultado de uma maior consciencialização e preocupação da população em geral por uma alimentação mais saudável e equilibrada, ou simplesmente por ser um estilo de vida ou mesmo uma moda. Na realidade, o consumo deste tipo de iguaria simples ou composta, como refeição principal ou como acompanhamento é uma situação actual, recorrendo-se na maior parte das vezes à restauração para o seu consumo.

Face ao exposto e estando comprovado que as pessoas estão mais conscientes dos perigos dos alimentos, estão mais esclarecidas quanto aos aspectos da segurança alimentar, preocupam-se mais com a sua saúde e relacionam cada vez mais a saúde com os alimentos, pode colocar-se uma questão: até que ponto as saladas de vegetais crus, preparadas na restauração pública, não representam um risco para a saúde dos consumidores?

É do conhecimento geral que já existem no mercado saladas de vegetais crus prontas a utilizar, designadas por produtos minimamente processados – Produtos IV Gama. Encontram-se na literatura várias definições de hortofrutícolas minimamente processados, que podem, no entanto, resumir-se de uma forma clara, considerando que se trata de produtos prontos a usar, frescos e cujas células e tecidos estão vivos (Huxsoll e Bolin, 1989; citado por Willocx, 1994).

Dado o crescente interesse pelo consumo deste tipo de alimentos, quer pela restauração, quer por consumidores domésticos, é de toda a conveniência realizarem-se estudos a eles referentes, quanto aos riscos que os mesmos podem representar para quem os consome. E com o factor acrescido de que as saladas não sofrem nenhum tratamento



térmico, que fique assegurado, tempestivamente, que os perigos biológicos referenciados foram eliminados ou reduzidos a níveis de risco aceitáveis.

## **1.1. DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

As doenças de origem alimentar constituem um grupo de patologias cuja etologia é “qualquer entidade nosológica de natureza infecciosa ou tóxica que seja causada pelo consumo de alimentos ou água”(Soares E. 2007; citado por Santos, 2011). Estas patologias estão associadas a um conjunto de sintomas como náuseas, vomito, diarreia, dores abdominais, sendo vulgarmente conhecidas como gastroenterites ou doenças diarreicas.

Nos Estados Unidos, o CDC define como doença transmitida por alimentos, um incidente em que duas ou mais pessoas apresentem os mesmos sintomas da doença, após a ingestão de um mesmo alimento e em que as análises epidemiológicas apontem o alimento como a origem da doença. É, no entanto, possível que face à gravidade de um agente, como por exemplo, a ocorrência de botulismo ou envenenamento químico, um único caso possa ser suficiente para desencadear mecanismos de alerta.

As doenças de origem alimentar são provavelmente o problema de saúde mais evidente no mundo contemporâneo, devido à emergência de novos microrganismos patogénicos, à reemergência de outros e ao desenvolvimento de novos produtos alimentares. Estas doenças, representam perdas significativas na produtividade económica, à escala mundial e têm aumentado de forma considerável. Este aumento pode atribuir-se a vários factores, nomeadamente às mudanças no estilo de vida da população. Na última década, têm-se verificado que a população tem dedicado um menor tempo à preparação das suas refeições, recorrendo cada vez mais à restauração e às refeições prontas a comer.

Os alimentos podem servir como veículo de patogénicos ao homem, ou como substrato para microrganismos que poderão produzir toxinas, que trarão prejuízos à saúde, quando ingeridos. As bactérias patogénicas encontram-se frequentemente em alimentos contaminados, sendo indesejáveis sob o ponto de vista da saúde pública (Carvalho, 2012). Segundo o mesmo autor, um ponto fundamental para melhorar a segurança dos

alimentos é conhecer a prevalência precisa, de cada um dos agentes responsáveis pelas toxinfecções alimentares.

De acordo com estudos da OMS, as doenças de origem alimentar mais comuns são as toxinfecções alimentares, entre as quais, mais de 60 % dos casos ocorrem devido a técnicas inadequadas de manipulação, processamento e contaminação dos alimentos servidos em restauração (Hayes, 1993).

As toxinfecções alimentares dividem-se em dois grandes grupos. O primeiro é causado pela presença, num alimento, de um microrganismo patogénico, o qual subsequentemente infecta o hospedeiro, designadas de infecções alimentares. O segundo grupo resulta da ingestão de toxinas sintetizadas no alimento, durante a proliferação e metabolismo de certos microrganismos, designadas de intoxicações alimentares (Novais, 1998).

Segundo Soares (2007), a intoxicação alimentar pode ter origem bacteriana, química ou por contaminação através de toxinas de origem natural existentes nos próprios alimentos.

Uma das causas mais associadas às toxinfecções alimentares, é a contaminação dos alimentos através dos manipuladores, que podem estar doentes ou serem portadores assintomáticos, comprometendo os alimentos por hábitos inadequados de higiene, como por exemplo, manipulação dos alimentos com as mãos mal higienizadas, incumprimento das condutas de higiene pessoal, falta de higiene das instalações e utensílios, condições inadequadas de armazenagem e de processamento, entre um sem número de situações possíveis.

Nos Estados Unidos, estima-se, que ocorram 76 milhões de casos de doenças de origem alimentar por ano, sendo a maioria dos casos diagnosticados ligeiros, cujo os sintomas desaparecem após um ou dois dias. Todavia outros são mais severos. O CDC estima que ocorram cerca de 325 000 hospitalizações e 5200 mortes por ano, em pessoas idosas, crianças, pessoas imunodeprimidos e indivíduos saudáveis, quando expostos a uma dose muito elevada do agente etiológico. Os custos económicos estimados são muito elevados, mesmo considerando apenas, os principais agentes etiológicos responsáveis pelas doenças de origem alimentar: *Salmonella* e a *Listeria monocytogenes*.

Mesmo nos Estados Unidos, onde existe um sistema de vigilância e notificação estruturado, o problema da subnotificação é sério. Estima-se que somente 20% dos casos de doença alimentar sejam reportados às autoridades competentes (Passos, 2002). Este facto levou o CDC, o United States Department of Agriculture (USDA) e a Food and Drug Administration (FDA) a criarem um sistema de vigilância activa denominado FoodNet, cujos objectivos principais são: determinar o impacto real das doenças de origem alimentar nos Estados Unidos, determinar a proporção dessas atribuíveis a alimentos específicos e responder às doenças infecciosas emergentes (Passos, 2002).

De acordo com o estudo e compilação elaborado pela Unidade de Observação e Vigilância do INSA referente à toxinfecções alimentares ocorridas em 2011 e 2012 a nível nacional e internacional, foram encontrados 49 surtos de toxinfecções alimentares, 30,6% em Portugal, 30,6% na Europa e 38,8% nos Estados Unidos; o número de pessoas afectadas foi de 3309, das quais foram hospitalizadas 783 (23,7%) e reportadas 8 mortes (0,24%) mortes; em 5 destes surtos o número de pessoas afectadas foi desconhecido (Correia, 2013).

A globalização, tanto da produção como do consumo alimentar, tem impacto na ocorrência de grande número de surtos. Dai a necessidade de maior controlo da qualidade microbiológica em toda a cadeia alimentar desde a produção até ao consumo, com elevada relevância para a importância da implementação de sistemas de segurança alimentar eficazes na produção e nas empresas de restauração, e para as boas práticas de higiene e manipulação dos alimentos pelo consumidor em casa.

Em termos de segurança alimentar, as fontes de contaminação mais frequentes na origem dos surtos de doenças alimentares são (Santos, 2011):

- Más condições hígio-sanitárias
- Matérias-primas e ingredientes contaminados
- Manipulações inadequadas que originam contaminações cruzadas
- Processamento inadequado dos alimentos
- Preparações efectuadas com muita antecedência
- Deficientes condições de armazenagem
- Falhas nos processos de monitorização e controlo
- Má higiene pessoal

- Pessoal manipulador infectado
- Armazenagem à temperatura ambiente
- Distribuição demorada

A forma de evitar ou reduzir os riscos de doenças do foro alimentar, passa pela aplicação correcta de:

- Boas práticas de higiene e produção
- Implementação de sistemas de segurança alimentar
- Formação/ educação de produtores, manipuladores e consumidores
- Aplicação de sistemas de vigilância

#### **1.1.1. CONDIÇÕES PARA A OCORRÊNCIA DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

Para que uma enfermidade transmitida por alimentos ocorra, o microrganismo patogénico ou a sua toxina deve estar presente no alimento. Na maioria dos casos de doenças provocadas por alimentos será necessário que:

- O microrganismo patogénico se encontre em quantidade suficiente para causar uma infecção ou para produzir toxinas
- O alimento seja capaz de sustentar o crescimento dos microrganismos patogénicos
- O alimento permaneça na zona de perigo de temperatura por tempo suficiente para o organismo se multiplique e/ou produza a toxina
- Seja ingerida uma quantidade suficiente do alimento de modo a ultrapassar o limiar de susceptibilidade do indivíduo que ingere o alimento

#### **1.1.2. DOSE INFECCIOSA**

De um modo geral, a maioria dos adultos saudáveis de países desenvolvidos pode ser afectada por doenças do foro alimentar, sofrendo apenas indisposições ligeiras e geralmente auto limitadas (não deixando de ter algum impacto social e económico). Porém, ocorrem incidentes, em especial junto de grupos populacionais mais vulneráveis, que têm uma expressão mais grave e que podem por em perigo a vida ou mesmo deixar sequelas (Soares, 2007).

A dose infecciosa consiste no número mínimo de microrganismos necessários para causar a doença e varia com o tipo de microrganismo e com o hospedeiro. O aparecimento de infecção deve-se portanto à interacção entre a capacidade do microrganismo causar doença (ou seja a sua virulência) e a vulnerabilidade do hospedeiro, ou seja, a capacidade que a pessoa tem, em cada momento, de debelar ou não a infecção de acordo com o seu sistema imunitário (Soares, 2007). Segundo o mesmo autor, esta vulnerabilidade varia ao longo da vida e de acordo com o estado fisiológico e o estado de saúde. Assim, as crianças, as grávidas, os idosos e os doentes imunocomprometidos, como doentes crónicos, neoplásicos ou sujeitos a terapêuticas imunossupressoras, constituem um grupo mais susceptível, para o qual não é linear estabelecer níveis de doses infecciosas.

Deve-se ter ainda em consideração que existe um conjunto de factores de natureza fisiológica que influenciam o nível da dose infecciosa mínima, tais como, o grau de acidez gástrica, conteúdo gástrico, a flora intestinal, nutricional e de stress do indivíduo.

Para além das variáveis do indivíduo, o próprio alimento veiculador de microrganismos patogénicos pode influenciar o desenvolvimento da doença, já que nalguns casos, mesmo pequenas doses de microrganismos podem causar doença se o alimento actuar como protector do agente etiológico.

Por último, é importante ter em atenção o facto de sobrevivência e de crescimento dos microrganismos nos alimentos serem determinados, por múltiplos factores de diferente natureza.

A Tabela n.º 1 apresenta, valores relativos a dose infecciosa susceptíveis de causar doença em adultos saudáveis para alguns microrganismos patogénicos. Os dados apresentados são dados internacionais (FDA), uma vez que não foram encontrados dados da realidade nacional.

**Tabela n.º 1 - Doses de alguns microrganismos patogénicos necessárias para causarem enfermidade em adultos saudáveis**

Microrganismo	Dose Infecciosa
<i>Shigella dysenteriae</i>	$10^1 - 10^4$
<i>Shigella flexneri</i>	$10^2 - 10^9$
<i>Vibrio cholerae</i>	$10^3 - 10^9$
<i>Salmonella typhi</i>	$10^4 - 10^9$
<i>Salmonella</i> (incluindo a <i>typhi</i> )	$10^5 - 10^{10}$
<i>Escherichia coli</i> (tipos patogénicos)	$10^6 - 10^{10}$
<i>Clostridium perfringens</i>	$10^8 - 10^9$
<i>Yersinia enterocolitica</i>	$10^9$

Fonte: FDA, 2003

### 1.1.3. VIGILÂNCIA DE DOENÇAS DE ORIGEM ALIMENTAR

As toxinfecções alimentares são consideradas como um problema de saúde pública e a sua vigilância epidemiológica é um pilar importante de uma política integrada de segurança alimentar.

Desde os tempos mais remotos e, à escala dos problemas de saúde com origem nos alimentos, foram tomadas diversas medidas no sentido de aumentar a segurança alimentar, mas o grande alerta mundial para estas questões surgiu em meados dos anos 90 com a crise da BSE, a que se seguiram outras, nomeadamente as dioxinas em frangos. Estas crises levaram a que a União Europeia sentisse a necessidade da existência de uma entidade isenta e credível, que tivesse como objectivo avaliar e comunicar aos consumidores e operadores económicos, os riscos presentes na cadeia alimentar, o que culminou na criação da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA). A EFSA é um organismo provido de um fórum consultivo (Advisory Forum), no qual têm assento os representantes de cada um dos Estados-Membros. Entre outras, estes representantes têm a missão de fornecer dados nacionais que directa ou indirectamente estejam relacionados com as questões de segurança alimentar.

A prevenção e a vigilância das doenças de origem alimentar são fundamentais e imprescindíveis, não cabendo a responsabilidade apenas ao Ministério da Saúde, mas a todos os organismos oficiais ou privados. Este assunto deve ser encarado por todos os

intervenientes, como um objectivo primordial, de modo a ser possível minimizar/reduzir os riscos envolvidos nas doenças de origem alimentar.

Prevê-se que a nível mundial, as toxinfecções alimentares são cerca de 350 vezes mais frequentes do que os casos declarados e por isso a OMS aconselha os países membros a reforçar os sistemas de vigilância das Toxinfecções Alimentares Colectivas (TAC). Considera que esses sistemas são a base para a formulação de estratégias nacionais que contribuam para a redução dos riscos relacionados com os alimentos.

Pôr em prática medidas reguladoras e de vigilância, implica um esforço multi-sectorial importante. Em paralelo, com o cumprimento das boas práticas de higiene, estas medidas reduzem os riscos envolvidos no aparecimento de doenças de origem alimentar.

Os serviços de saúde, nomeadamente os de saúde pública, têm desempenhado um papel importante nestas questões. Ao longo da história as epidemias de origem alimentar ou por consumo de água afectaram inúmeras populações. A intervenção dos serviços de saúde organizados permite o tratamento, prevenção e controlo das situações, de modo a impedir ou diminuir o seu impacto na vida das populações (Soares, 2007).

Aos serviços de saúde cabe a responsabilidade de organizar e assegurar estes sistemas de vigilância, de modo a planear medidas de prevenção adequadas e em estreita colaboração com outras entidades, com responsabilidades na área da segurança dos géneros alimentícios.

Os sistemas de vigilância das doenças do foro alimentar são complexos e morosos, contemplando:

- Avaliação das causas de morte
- Avaliação dos diagnósticos de alta hospitalar
- Avaliação das notificações das doenças de origem alimentar
- A investigação de surtos
- A implementação e monitorização de sistemas de sentinela
- A vigilância laboratorial

De acordo com Martinho (2008), outra abordagem possível para a caracterização das toxinfecções alimentares, seria a realização de estudos dos agentes causadores das

possíveis toxinfecções, detectados em análises microbiológicas alimentares de rotina, em vez de utilizar os casos clínicos identificados.

#### **1.1.4. DOENÇAS DE ORIGEM ALIMENTAR EM PORTUGAL**

##### **1.1.4.1. Toxinfecções Alimentares em Portugal**

Designa-se por Toxinfecção alimentar qualquer doença de natureza infecciosas ou tóxica, causada (ou que se presume ser causada) pela ingestão de alimentos ou água, contaminados por microrganismos patogénicos, como bactérias, vírus, parasitas, fungos ou toxinas por ele produzidos (DGS, 2001). Nas situações em que são afectados um ou mais indivíduos e que a origem seja comum considera-se Surto de Toxinfecção Alimentar (STA).

De acordo com os dados apresentados pela EFSA referentes a 2011, foram identificados 5648 surtos de origem alimentar, resultando em 69553 casos humanos, 7125 hospitalizações e 93 mortes.

É crucial referir que os dados de STA reportados pela EFSA relativamente a Portugal, têm sido os estudados pelo Instituto Nacional de Segurança Alimentar do Ricardo Jorge (INSRJ) – Laboratório de Microbiologia Alimentar.

Segundo o último estudo de investigação efectuado pelo INSA, no período compreendido entre 2009-2013, foram registados 40 surtos com o agente etiológico identificado, 726 casos isolados, verificando-se que 109 pessoas foram hospitalizadas e resultando 1 morto (Correia, 2013).

Ainda, segundo o mesmo estudo, nos alimentos responsáveis por um maior número de toxinfecções alimentares, destacaram-se as refeições mistas, produtos de pastelaria e outros não identificados, com cerca de 63%, 15,4% e 12,3% respectivamente.

De acordo com a mesma fonte, os factores que mais contribuíram para os surtos de toxinfecções alimentares notificados em Portugal no período em apreço são:

- Inadequado tratamento térmico
- Inadequado binómio tempo/temperatura de conservação
- Contaminação cruzada
- Presença de manipuladores infectados



De modo a diminuir a incidência destes surtos, os factores elencados devem ser contemplados como pontos críticos nos programas de educação para a segurança alimentar, visando a eliminação de comportamentos de risco (Correia, 2013).

#### **1.1.4.2. Factores Associados às Toxinfecções Alimentares**

De acordo com Novais (2004), os factores que normalmente têm contribuído para as toxinfecções alimentares, são os seguintes:

1. Factores que possibilitam a multiplicação de microrganismos patogénicos:

- Preparações de alimentos efectuadas com muita antecedência
- Manutenção dos alimentos à temperatura ambiente
- Inadequados procedimentos para o arrefecimento, manutenção a quente/frio e congelação dos géneros alimentícios
- Preparação de grandes quantidades de alimentos

2. Factores que facilitam a sobrevivência dos microrganismos patogénicos:

- Inadequado tratamento térmico
- Inadequado reaquecimento
- Manutenção dos alimentos à temperatura ambiente

Também a Food and Drug Administration (FDA) identifica os seguintes factores críticos no Food Code (FDA, 2002):

- Temperatura de conservação dos alimentos inadequada
- Temperaturas de confecção dos alimentos inadequadas
- Alimentos fornecidos de fontes inseguras
- Equipamento contaminado
- Higiene pessoal deficiente

#### **1.1.4.3. Registos de Ocorrência em Portugal**

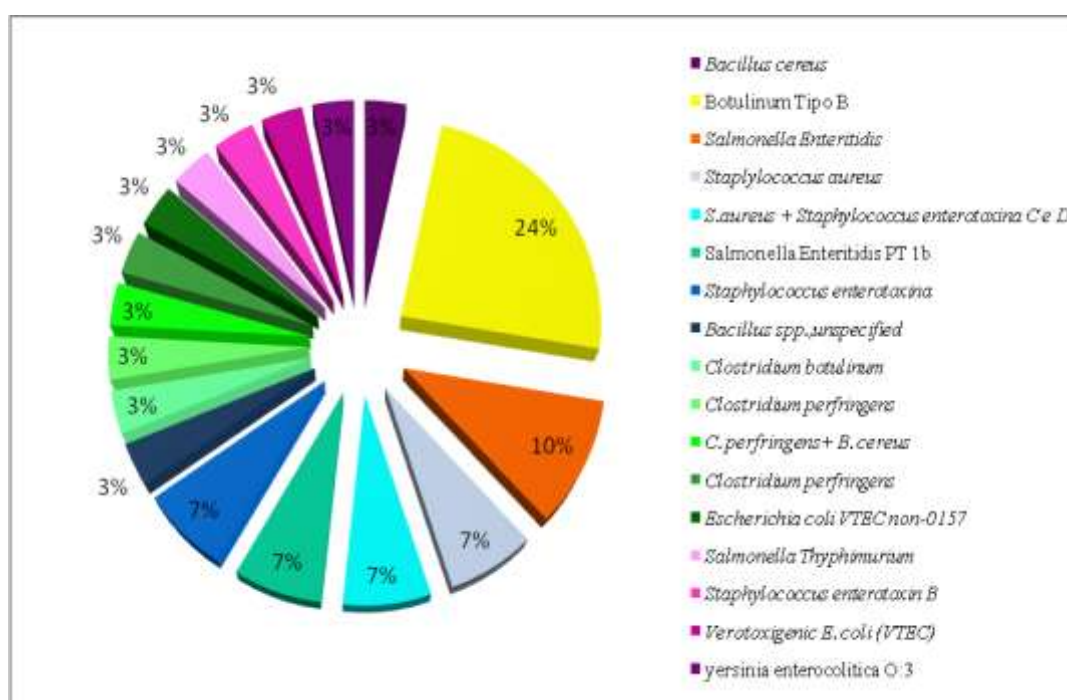
Como já referido anteriormente, os dados disponíveis sobre o país são incipientes, no entanto apresenta-se no gráfico n.º 1, os dados disponíveis relativos à ocorrência de doenças de origem alimentar conhecidos em Portugal, no período compreendido entre 2008 a 2011.

Os dados disponíveis são os dados do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

#### 1.1.4.3.1. Notificações por Agentes Causadores

No gráfico n.º 1 apresentam-se os surtos de origem alimentar, por agente causador, notificados em Portugal no período de 2008 a 2011, pela mesma fonte. Constatou-se que, em aproximadamente metade dos casos notificados, não foi possível identificar o agente causador. Para os casos em que foi possível efectuar essa identificação, verifica-se que o *Clostridium botulinum* tipo B, é o agente etiológico mais frequentemente encontrado, representando 24% dos casos, seguindo-se a *Salmonella* Enteritidis, identificada em 10% dos casos.

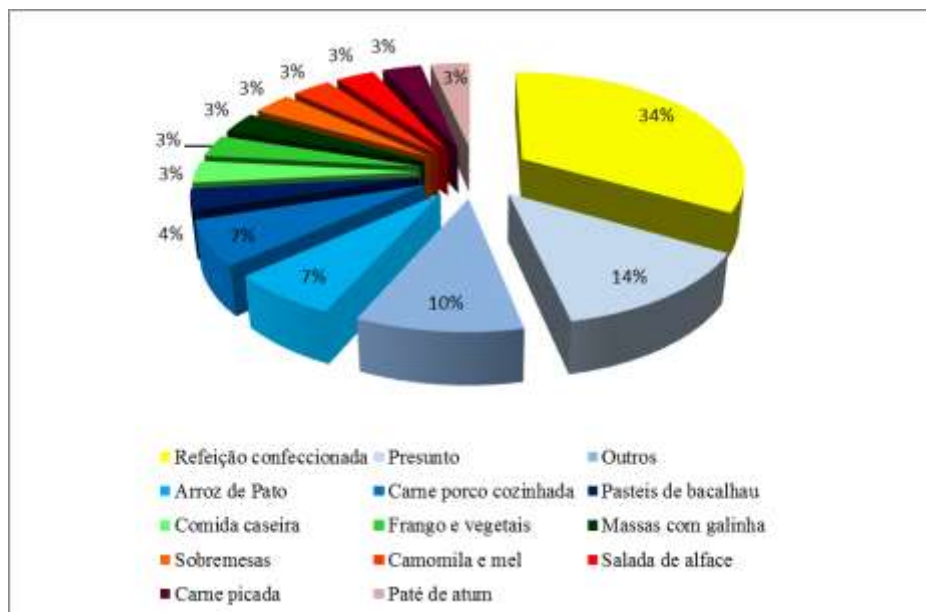
Gráfico n.º 1 - Agentes Etiológicos Responsáveis por Toxinfecções Alimentares – 2008 a 2011



#### 1.1.4.3.2. Notificações por Alimentos Contaminados

O gráfico n.º 2 apresenta os surtos de origem alimentar, por alimento contaminado, no mesmo período. Verifica-se que as refeições confeccionadas são as responsáveis por cerca de 34% das ocorrências registadas. Destaca-se ainda 3% para frango e vegetais e as saladas de alface que representam 3%. Comparando com o estudo de investigação efectuado pelo mesmo organismo, mas no período compreendido entre 1993 e 2001, destacam-se as refeições cozinhadas, como sendo os alimentos responsáveis por um maior número de toxinfecções alimentares, em ambos os períodos estudados e mantendo a percentagem de ocorrências registadas, em 34%.

**Gráfico n.º 2 - Surtos de doenças alimentares, por alimentos contaminados, na região de Lisboa – 2008 a 2011**



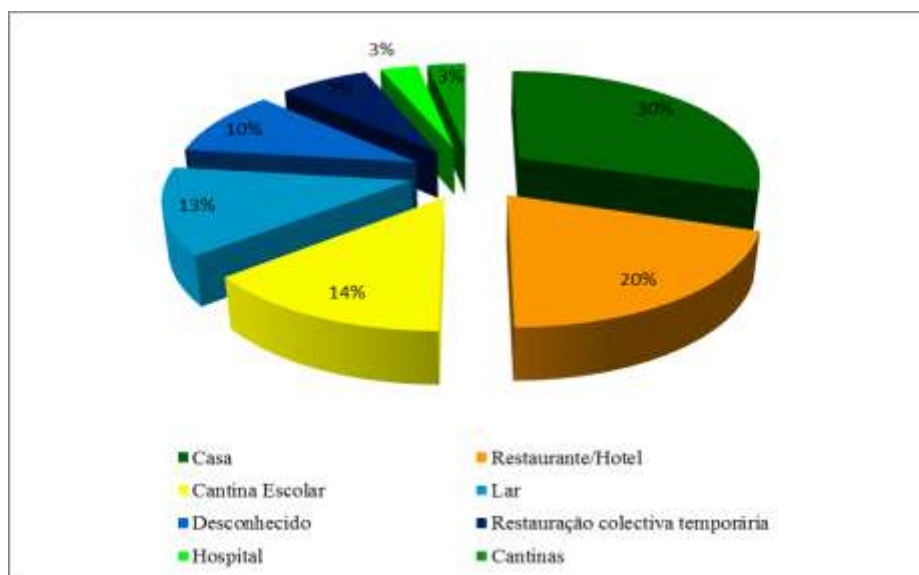
#### 1.1.4.3.3. Notificações por Local de Ocorrência

No que se refere a locais onde o alimento esteve exposto, onde decorreram as fases finais de preparação ou onde foi consumido, apresenta-se no gráfico n.º 3 os surtos por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado no período correspondente a 2009- 2012.

O local predominante de ocorrência de toxinfecções alimentares foram as casas particulares, representando 32% do número global de surtos. Os outros dois locais de ocorrência com maior preponderância de ocorrência foram as cantinas escolares e os restaurantes, com 23% e 12% respectivamente.

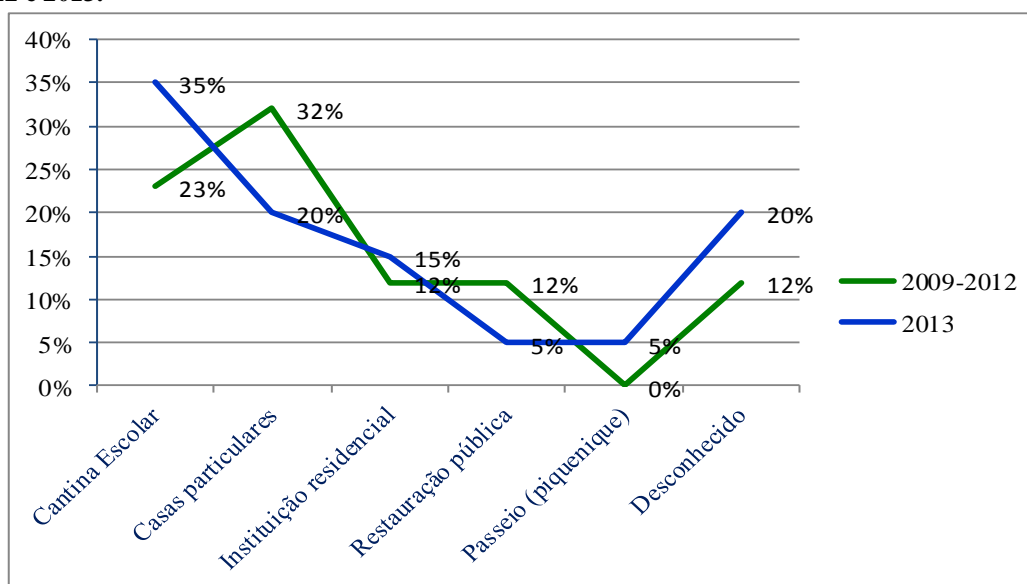
É, no entanto, necessário ter em consideração que estes números não reflectem a frequência de consumo em cada local. Se este factor for tomado em consideração, verificar-se-ia que a taxa de ocorrência associada ao consumo no domicílio seria substancialmente inferior às outras.

**Gráfico n.º 3 - Surtos por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado no período 2009-2012**



De modo a ser possível realizar uma análise comparativa entre o período de 2009-2012 e o ano de 2013, apresenta-se no gráfico n.º 4 os surtos por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado no ano de 2013.

**Gráfico n.º 4 - Surtos por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado no período 2009-2012 e 2013.**



Da análise destes dados, salienta-se que o número de ocorrências, em cantinas escolares, aumentou significativamente (de 23% para 35%), e comparando com os dados do estudo efectuado no período compreendido entre 1993 e 2004 (9%), o aumento é

drástico e preocupante, tendo em consideração, que os consumidores habituais nestes locais, são crianças e jovens e que como tal constituem um grupo de risco.

Comparando com o estudo de investigação efectuado pelo mesmo organismo, mas no período compreendido entre 1993 e 2001, em 2012 mantinha-se como local de ocorrência predominante as casas particulares, no entanto constatou-se um decréscimo, de 41% para 35% e em 2013 para 20%. A restauração pública que até 2012 mantinha um número significativo de surtos de toxinfecções alimentares, diminuiu significativamente em 2013 (5%).

## **1.2. MICROBIOLOGIA DOS VEGETAIS**

### **1.2.1. CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DOS VEGETAIS**

Os produtos de origem vegetal podem ser contaminados de diversas formas por microrganismos patogénicos ou de alteração. A contaminação geralmente inicia-se na fase de produção, nos campos, no contacto com o solo, água, fezes de animais, insectos e pelos próprios manipuladores. Contudo, a contaminação pode continuar durante as etapas de colheita, transporte, processamento ou preparação e termina na preparação do produto pelo consumidor. Medidas preventivas necessitam ser adoptadas para minimizar a contaminação dos produtos em toda a cadeia de produção, a implementação das Boas Práticas Agrícolas (BPA), Boas Práticas de Produção (BPP) e de programas de gestão da segurança alimentar são fundamentais para a prevenção da contaminação e do crescimento microbiano em produtos vegetais crus. De acordo com Bean *et al.* (1997), citado por Framegas em 2012, o número de surtos de infecção alimentar documentados e associados ao consumo de produtos frescos de origem vegetal aumentou, justificando-se portanto a adopção de medidas que invertam esta tendência.

O desenvolvimento de microrganismos em vegetais vai depender das suas características, propriedades do vegetal e dos efeitos da preparação, embalagem e armazenamento. Cada produto a ser preparado passa por uma série de etapas, incluindo manipulação, lavagem, contacto com os equipamentos e conservação. Cada uma dessas etapas pode interferir na contaminação, proliferação e sobrevivência dos microrganismos.

Segundo King *et al.*, 1991, citado por Framegas em 2012, análises efectuadas em etapas distintas da preparação demonstram que o produto final é menos contaminado que as hortaliças no início do processamento. No entanto, a contaminação microbiana pode também ocorrer durante o processamento e distribuição, devendo por isso, serem cumpridas as BPH em todas as etapas de produção, ou seja, desde a recepção até à distribuição.

A contaminação durante todo o processo produtivo, pode ocorrer devido a falhas de higiene pessoal, por contacto do vegetal com equipamentos/utensílios mal higienizados ou contaminação cruzada com outros alimentos. Os utensílios utilizados na preparação podem ser potenciais fontes de contaminação do vegetal, pois normalmente possuem partes de difícil higienização onde as bactérias se alojam, bem como superfícies irregulares, que permitem a infiltração microbiana, fornecendo condições para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos.

A conservação da matéria-prima ou do produto final, mal acondicionadas e/ou a temperaturas incorrectas, favorece a contaminação e consequentemente a proliferação microbiana, podendo mesmo atingir níveis de contaminação inaceitáveis, do ponto de vista da segurança do produto.

### **1.2.2. MICRORGANISMOS ESTUDADOS**

A avaliação microbiológica dos alimentos é um assunto de interesse relevante, desde o início da microbiologia como ciência. Esta avaliação constitui-se num dos parâmetros mais importantes para se determinar a qualidade e a sanidade dos alimentos, e é igualmente importante para verificar se padrões e especificações microbiológicas nacionais e internacionais, estão a ser respeitadas.

É fulcral referir que os vegetais devido à sua natureza têm microrganismos, para além do facto de reunirem as condições necessárias para o seu desenvolvimento, nomeadamente humidade e serem nutritivos. Uma vez que a eliminação total dos microrganismos não é possível em produtos desta natureza, quer devido à elevada carga microbiana inicial, quer devido à humidade remanescente após tratamento do produto, existe sempre a possibilidade da sobrevivência e multiplicação de alguns patogénicos (Furtado, 2005; citado por Carvalho, 2012). Segundo a mesma autora, a prevenção da contaminação das saladas, pelo facto de serem consumidas em cru, deverá incidir

fundamentalmente na fase final da preparação, durante a qual a higienização deverá ser cuidada para que os microrganismos sejam reduzidos a níveis aceitáveis.

É fundamental referir que, a preparação das saladas, torna-as mais sensíveis à deterioração, uma vez que, perdem o tecido protector (casca) que promove o efeito de barreira física contra a invasão microbiana, o corte aumenta a superfície de contacto susceptível de ser contaminado, o corte dos tecidos liberta nutrientes que servem de substrato aos microrganismos, acelerando o desenvolvimento destes. As manipulações excessivas também tornam o produto mais susceptível à invasão microbiana.

No âmbito deste estudo de saladas de vegetais crus servidos em restauração pública, foram estudados os microrganismos com maior interesse do ponto de vista do tipo de produtos vegetais.

#### **1.2.2.1. Microrganismos Patogénicos**

As bactérias potencialmente patogénicas, que podem ser encontradas nos alimentos pertencem a um grupo relativamente restrito de géneros. As espécies mais comumente envolvidas em toxinfecções alimentares são: *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica*.

Os graves surtos de toxinfecções que têm ocorrido, nos últimos anos, nos países ocidentais, sanitariamente mais evoluídos, originados pela presença de microrganismos patogénicos nos alimentos, desencadearam reacções em alguns sectores de opinião pública, da qual resulta a necessidade de se re-equacionar permanentemente a problemática da segurança alimentar, em geral, e dos alimentos em particular (Carvalho, 2012).

Algumas destas bactérias provocam doenças alimentares, as toxinfecções alimentares, ou seja, gastroenterites acompanhadas de vómitos e diarreias, o tempo que medeia entre a ingestão do alimento e o aparecimento dos primeiros sintomas é relativamente curto, de 2 a 72 horas, podendo vitimar um elevado número de pessoas.

#### 1.2.2.1.1. *Salmonella* spp

Os alimentos frescos de origem animal ou vegetal são habitualmente referidos como os veículos mais importantes de *Salmonella*, sobretudo, quando ingeridos crus ou mal passados. Os manipuladores com hábitos higiénicos deficientes desempenham um papel não negligenciável. Também as águas não potáveis, ou poluídas com efluentes de origem fecal podem contaminar os alimentos se não forem devidamente tratadas e utilizadas em lavagem de equipamentos, dos locais e materiais. Esta via é particularmente importante para as estirpes que são parasitas exclusivas do Homem (*Salmonella* typhi, *Salmonella* paratyphi A, B, C), e que no caso português ainda correspondem a um número muito elevado de casos (Filipe; 2005, citado por Gonçalves, 2012).

As salmoneloses constituem um grupo de infecções causadas por bactérias do género *Salmonella*, que têm sido encaradas como um importante agente patogénico zoonótico com enorme impacto económico em animais e humanos.

A *Salmonella* pertence à família das *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos gram-negativos não esporulados, anaeróbios facultativos, produtores de gás a partir da glicose, com a excepção da *Salmonella* typhi que não produz gás. A maioria dos serotipos apresenta mobilidade pela presença de flagelos (Hayes, 1993).

O género *Salmonella* divide-se em duas espécies: *S. entérica* e *S. bongori*. A *Salmonella* entérica é ainda dividida em seis subespécies, sendo a mais frequente a *Salmonella* entérica subsp. *Entérica*. No texto que se segue os organismos serão identificados pelo género seguido do serotipo. Existem mais de 2400 serotipos de *Salmonella* com potencial zoonótico, cuja prevalência se tem modificado ao longo do tempo (Bernardo, 2006).

O habitat natural de *Salmonella* é o tracto intestinal de animais homeotermos e heterotermos, com ciclo de infecção entre animais, os seres humanos e o meio ambiente. As infecções causadas por *Salmonella* ocorrem, geralmente, devido ao consumo de alimentos ou água contaminados com células viáveis.

As doenças causadas por *Salmonella* são subdivididas em febre tifóide, causada por *Salmonella* typhi, febres entéricas, causadas por *Salmonella* paratyphi A, B e C e



gastroenterites ou salmoneloses, causadas pelos outros serotipos. Estas últimas têm sido relatadas como as mais frequentes. Os sintomas de gastroenterite incluem dores abdominais, diarreia, náuseas, vômito, febre moderada e dores de cabeça. O período de incubação é de 6 a 72 horas, com uma média de 12 a 36 horas. A febre tifoide caracteriza-se clinicamente por febre contínua, diarreia, erupção de manchas rosa no abdómen e septicemia (Franco e Landgraf, 1998). As febres entéricas são muito semelhantes à febre tifóide, mas os sintomas clínicos são geralmente mais brandos. A febre entérica manifesta-se com febre, dores corporais e abdominais, calafrios, náuseas vômito e diarreia. A febre tifoide pode durar de uma a oito semanas, enquanto as febres entéricas duram no máximo três semanas.

A gastroenterite pode ser grave em crianças com idade inferior a três meses, em idosos e em pessoas que pertençam a grupos de risco. A maioria dos óbitos ocorre em pacientes idosos, no entanto a doença pode ser fatal em pacientes saudáveis, dependendo da virulência da linhagem e da dose ingerida (Bernardo, 2006). Os principais alimentos responsáveis pela toxinfecção por *Salmonella* são: carnes, aves, ovos e derivados, leite e outros alimentos proteicos. A transmissão pode ocorrer directamente por contaminação através das fezes. A gastroenterite causada pela ingestão de ovos contaminados com *Salmonella Enterica* aumentou consideravelmente em todos os países a partir da metade da década de 1980. Em 1990 o FDA declarou que os ovos eram produtos de risco, e deveriam estar sujeitos ao controlo de temperaturas.

Os serotipos mais frequentemente associados a doenças nos humanos na União Europeia são *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. Os casos de *S. Enteritidis* estão mais associados com o consumo de ovos e carne de frango contaminados, enquanto os casos de *S. Typhimurium* estão mais relacionados com o consumo de carne de suínos, bovinos e de aves domésticas contaminadas (EFSA, 2007).

Kovats *et al.*, (2004) demonstraram que existe uma associação linear entre a temperatura ambiental e a incidência de *Salmonella*. O estudo foi realizado em dez países europeus (Dinamarca, Escócia, Espanha, Estónia, Inglaterra, Noruega, Polónia, Republica Checa, Eslovénia e Suíça), com registo de maior número de surtos nos meses de verão.

Na europa, em países como a Holanda, Inglaterra, Noruega, Suécia, Finlândia, Dinamarca e Alemanha, a alface é o alimento mais implicado como veículo de infecção, nomeadamente por via das estirpes de *Salmonella*, *E. coli* e *Shigella*. Na maioria dos surtos o provável país de origem da alface foi Espanha (Gonçalves, 2012).

Em Portugal, de entre todos os agentes, a *Salmonella* é dos agente mais frequentes, entre os que se transmitem por via alimentar, embora os dados epidemiológicos disponíveis sejam escassos (Correia, 2013).

#### **1.2.2.1.2. *Listeria monocytogenes***

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria ubíqua, com capacidade de se desenvolver em condições inóspitas para outros microrganismos patogénicos, pois multiplica-se num intervalo de temperaturas amplo de 1 °C a 45 °C, podendo sobreviver a temperaturas inferiores. Esta característica torna os alimentos “prontos a comer” com algum prazo de validade, particularmente susceptíveis (EFSA, 2007; citado por Carvalho, 2012).

A *Listeria* é um bacilo pequeno (0,5 µm de diâmetro e 1-2 µm de comprimento), regular, gram-positivo, que pode apresentar-se em unidades ou cadeias pequenas. Não forma esporos, é anaeróbio facultativo, produz catalase, mas não oxidase. É móvel a 25 °C, com movimento característico, e é imóvel a 35°C.

O desenvolvimento da *Listeria monocytogenes* nos alimentos está condicionada a diversos factores, nomeadamente a natureza do meio pH (4,4 a 9,9), sendo 7,0 o seu pH óptimo e temperatura (1,0°C a 46°C). Por ser ácido tolerante, pode sobreviver em alimentos de alta acidez por dias ou semanas. A *Listeria* é um dos poucos microrganismos patogénicos que se multiplica em substratos com actividade de água e em meio de cultura com 10% de NaCl.

São reconhecidas sete espécies de *Listeria*: *L. innocua*, *L. grayi* (consideradas não patogénicas), *L. seeligeri* e *L. welshimeri*; (raramente causam infecções nos humanos), *L. ivanovii* (patogénica para os animais) e *Listeria monocytogenes* (patogénica), que é a espécie mais importante nos casos de infecções transmitidas pelos alimentos.

A *Listeria monocytogenes* pode ser dividida em subtipos por vários métodos, sendo o mais comum baseado no reconhecimento de antígenos de superfície por anticorpos específicos. São reconhecidas 13 antígenos, mas somente os antígenos (4b,1/2<sup>a</sup> e 1/2b)

são responsáveis por 89 a 96% dos casos de listerioses humana, com predomínio do antígeno 4b nos casos de doença (ICMSF, 1996).

A hemolisina é o factor mais importante de virulência da *Listeria* e três espécies, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii* e *Listeria seeligeri*, são hemolíticas.

Dos alimentos envolvidos em surtos de listeriose, destacam-se o leite cru, queijos, carne de bovino, suíno, aves e seus derivados, frutos do mar, além dos produtos vegetais, crus ou processados, e refeições preparadas.

Foram diversas as formas de transmissão do microrganismo a humanos relatadas, mas a via alimentar parece ser a mais preocupante. De salientar que o risco de desenvolver uma infecção por *Listeria monocytogenes*, após a ingestão de um alimento contaminado, é baixo para a população em geral (CDC, 1999; citado por Carvalho, 2012).

A ingestão de alimentos contaminados por *Listeria monocytogenes* é particularmente perigosa para gestantes, indivíduos com síndrome de imunodeficiência adquirida ou portadores de HIV, cirrose, carcinomas ou outras doenças, embora a doença possa ocasionalmente ocorrer em indivíduos não predispostos. Idosos e recém-nascidos são também susceptíveis à listeriose e enquadrados como indivíduos de alto risco (FDA, 2003).

Actualmente, sabe-se da existência de dois tipos de listeriose humana. Uma forma mais severa, invasiva que compromete principalmente o sistema nervoso central, manifestando-se através de meningite, encefalite, septicemia ou provocando aborto no 2º ou 3º trimestre e nascimento de feto prematuro. Endocardites e osteomielites também podem ocorrer, mas são raras. O período de incubação da listeriose pode variar de um dia a algumas semanas.

O segundo tipo, mais brando, é uma doença gastrointestinal autolimitada e não invasiva, caracterizada pelo desenvolvimento de febre, diarreia, náuseas, vômito, dores de cabeça, após 12 a 24 horas de exposição. A dose mínima de infecção não foi ainda estabelecida, mas informações sobre a população de *Listeria monocytogenes* em alimentos contaminados envolvidos em surtos indicam que populações entre  $10^3$  –  $10^4$  unidades formadoras de colónias (ufc/g) de alimento foram responsáveis pela doença.

Apesar de *Listeria monocytogenes* causar uma doença de baixa morbidade (0,3 – 1 caso /100 000 pessoas /ano, nos Estados Unidos), a sua importância está na elevada mortalidade associada a ela (FDA, 2003).

Nos Estados Unidos, no período compreendido entre 1970 e 2002, foram registados 466 casos de listeriose, envolvendo quatro grupos de alimentos. Os alimentos responsáveis pelos casos de doença foram os produtos lácteos, produtos cárneos, vegetais e ovos. Nove destes surtos foram associados a um único veículo, sendo os laticínios responsáveis por quatro surtos, carnes por três, um surto atribuído a vegetais e outro a ovos (FDA, 2003). Dados dos Estados Unidos indicam, que nos últimos anos, verifica-se um declínio na incidência de infecções causadas por alguns microrganismos patogénicos. No entanto, o mesmo levantamento mostra que o número de infecções causadas por *Listeria monocytogenes* não tem diminuído significativamente (CDC, 2010).

A *Listeria monocytogenes* está amplamente distribuída em campos agrícolas, sendo possível o seu isolamento de diferentes nichos ecológicos. Plantas e partes comestíveis podem apresentar *Listeria monocytogenes*, aderida superficialmente devido à formação de biofilmes. Isso poderá ter um papel importante na disseminação do microrganismo patogénico do seu habitat natural para a indústria e restauração, contaminando os equipamentos, utensílios, locais de armazenamento, entre outros.

A sobrevivência e multiplicação de *Listeria monocytogenes* em produtos “*in natura*” são afectadas por diferentes factores, tais com a idade e tipo de produto, nível de contaminação, temperaturas de armazenagem e a própria atmosfera.

Dado a relevância da *Listeria monocytogenes* na segurança alimentar e particularmente nos vegetais frescos, vários têm sido os estudos realizados nesse âmbito, dos quais se destaca:

Norrung *et al.*, (1999) analisaram 350 amostras de vegetais cortados e constataram uma elevada ocorrência de *Listeria monocytogenes*. Este estudo foi realizado na Dinamarca, segundo os limites estabelecidos naquele país, populações microbianas entre 10 e 100 ufc/g de alimento são consideradas insatisfatórias e com teores superiores a 100 não são aceitáveis. Do universo analisado, 23% das amostras estavam em condições insatisfatórias.

Um estudo realizado em 2001, no Brasil, e num universo de 101 amostras de alface e 149 amostras de outros vegetais, colhidos em diferentes épocas do ano, demonstraram baixa contaminação (3,2%) por *Listeria monocytogenes*. No entanto, o microrganismo foi detectado em amostras de alface, salsa e agrião.

Em Portugal, Guerra *et al.* (2001), analisaram 37 amostras de frutos e hortaliças “*in natura*” e não detectaram *Listeria monocytogenes*.

Da mesma forma, Petra *et al.* (1998), num estudo realizado nos Estados Unidos, também não detectaram *Listeria monocytogenes* em amostras de vegetais comercializados frescos ou congelados.

Na Índia, Pingulkar *et al.* (2001), analisaram 116 amostras de vegetais diversos e não isolaram *Listeria monocytogenes* nas saladas, prontas para consumo humano.

Em Espanha, Soriano *et al.* (2001), pesquisaram a presença de espécies de *Listeria*, em 40 amostras de alface “*in natura*”. Os resultados revelaram uma frequência de 30% de *L. grayi* e *L. ivanovii*, 20% de *L. seeligeri* e 10% de *L. monocytogenes* nas amostras de alface.

Na Noruega, Johannessen *et al.* (2002), avaliaram 200 amostras de diferentes tipos de alface, nesta pesquisa foi detectada *Listeria monocytogenes* numa amostra de alface (0,5%) e nas saladas pré-cortadas não foi detectada.

Amostras de vegetais prontas para consumo foram analisadas por Sagoo *et al.* (2003), no Reino Unido. Os resultados demonstraram uma baixa ocorrência de *Listeria monocytogenes*, que variou entre 2,3 a 3% do total de amostras (2950 e 3853, respectivamente).

No caso de amostras de vegetais processadas, Soriano *et al.* (2001), pesquisaram a presença de espécies de *Listeria* em 20 amostras prontas para consumo, nas quais verificaram a presença de *L. grayi* em 30%, *L. ivanovii* e *L. monocytogenes* em 10% das amostras. Estudo idêntico foi realizado por Johannessen *et al.* (2002) na Noruega, em que avaliaram 100 amostras de alface pré-cortadas e não detectaram a presença de *Listeria monocytogenes*.

#### 1.2.2.1.3. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica (coccus) que aparece aos pares no exame microscópico, em cadeias curtas ou em cachos similares aos da uva ou em grupos. É uma bactéria gram-positiva e algumas estirpes produzem toxinas proteicas

termoestáveis causadoras de doença nos humanos. A toxina é produzida aquando a multiplicação da bactéria nos alimentos, deixados a temperaturas inadequadas (FDA/CFSAN, 2006).

*Staphylococcus aureus* é um microrganismo largamente disseminado na natureza, podendo ser encontrado no solo, água, ar, sendo o homem a principal fonte de contaminação dos alimentos. É importante referir, que nem todas as estirpes de *Staphylococcus aureus* são patogénicas, mas as de origem humana são frequentemente enterotóxicas. Esta bactéria coloniza as vias respiratórias superiores (nariz, boca, garganta) de indivíduos atingidos de afecções, nomeadamente anginas, sinusites ou portadores sãos.

O desenvolvimento do *Staphylococcus aureus* nos alimentos e a sua toxicidade está condicionado a diversos factores, nomeadamente, a natureza do meio (pH de 5 a 9), a temperatura (de 6,7°C a 46°C) e concentrações de NaCl até 12%. Em condições óptimas de desenvolvimento do microrganismo a formação da toxina é rápida.

O período de incubação é curto e os sintomas aparecem intensos e subitamente entre 1 a 6 horas, após a ingestão do alimento contaminado. Os principais sintomas são: náuseas, vómitos violentos e repetidos (sintoma mais característico), dores abdominais, diarreias, prostração, desidratação e, por vezes, temperatura subnormal, sendo geralmente pouco duradores, menos de um ou dois dias.

A maioria das intoxicações é provocada por contaminação directa dos alimentos cozinhados, durante a manipulação e enquanto estão quentes, através de secreções do nariz, da boca, da pele e de feridas. Posteriormente, se encontrarem condições favoráveis de desenvolvimento, poderão crescer e produzir a toxina. É conhecida como a doença dos banquetes por se manifestar subitamente nas pessoas, ainda durante o repasto (Breda, 2004; FDA/CFSAN, 2006).

As toxinas estafilocócicas pertencem a um dos grupos de toxinas mais bem estudadas nas toxinfecções alimentares. O *Staphylococcus aureus* é capaz de produzir uma variedade de toxinas, sendo as principais as do tipo A, B, C1, C3, D e E. Outras espécies como *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus intermedius* podem produzir enterotoxinas. As toxinas do tipo A e D são as mais relacionadas com as intoxicações.

Estas toxinas são termolábeis e apresentam estabilidade em pH extremos e radiação, sendo por isso, muito difícil eliminar a toxina do alimento.

São de natureza polipéptida cuja dose emética (capaz de provocar vômito) para adultos é da ordem dos 0,15 µg/Kg de peso corporal (Filipe, 2005). A característica mais notável destas enterotoxinas, com pesos moleculares compreendidos entre 30 000 e 35 000 Da, é o facto de serem muito dificilmente inactivadas pelo calor (cerca de 1 hora a 100° C) para total inactivação. Quantidades sensíveis de enterotoxinas são obtidas sempre que o teor dos *Staphylococcus* supera 10<sup>5</sup> ufc/g de alimento (Filipe, 2005).

O mecanismo pelo qual a toxina causa sintomas ainda não está claramente definido, mas tudo indica que a mesma estimula o sistema nervoso autónomo e não é absorvida sistematicamente.

Os principais alimentos relacionados com a presença de toxinas estafilocócicas são os cremes, bolos e coberturas de bolos, produtos feitos com ovos, carnes, maionese, entre outros. Geralmente a contaminação ocorre por intermédio dos manipuladores de alimentos, que são na maioria das vezes portadores da bactéria, nos dedos e narinas.

Analisando os resultados analíticos das saladas de vegetais crus, realizadas no Laboratório INSA, referentes ao ano de 2012, conclui-se que do universo analisado 35% são não satisfatórias, de acordo com os valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração pública (Correia, 2012). Salienta-se que, em apenas uma amostra foi quantificado um agente patogénico, designadamente o *Staphylococcus aureus* coagulase positiva.

#### **1.2.2.2. Microrganismos Indicadores de Higiene**

A presença de microrganismos nos alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior destes produtos. Exceptuando-se um número reduzido de produtos submetidos a esterilização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias, vírus e parasitas. Muitos alimentos, tornam-se potencialmente perigosos para o consumidor, somente quando os

princípios de higiene são violados, levando ao crescimento de agentes infecciosos ou toxigénicos, podendo tornar-se um veículo de transmissão de doenças (ICMSF, 1984).

Nas análises microbiológicas realizadas aos alimentos, é comum pesquisar a existência de bactérias, cuja presença indica a possibilidade da presença de bactérias produtoras de toxinfecções alimentares. Estas bactérias são denominadas de microrganismos indicadores e são geralmente consideradas como sendo de grande significância, quando da avaliação da segurança e qualidade microbiológica de alimentos.

Microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes num alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patogénicos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas, durante o processamento, produção ou armazenamento.

Como exemplos de microrganismos indicadores podem ser citados aqueles que, segundo a ICMSF, podem ser agrupados em:

1. Microrganismos que não oferecem um risco directo à saúde: contagem padrão de mesófilos, contagem de psicrótrofos e termófilos e contagem de bolores e leveduras.
2. Microrganismos que oferecem um risco baixo ou indirecto à saúde: coliformes totais, enterococos, *enterobacteriaceae* totais, *Escherichia coli*.

#### **1.2.2.2.1. *Escherichia coli***

A *Escherichia coli* é a espécie predominante, entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos que fazem parte da flora intestinal de animais de sangue quente. Este microrganismo pertence à família das *Enterobacteriaceae* e, entre as suas principais características destacam-se: bacilos gram-negativos, não esporulados, capazes de fermentar a glicose com produção de ácido e gás. A maioria fermenta também a lactose, com produção de ácido e gás. Apresentam antígenos somáticos O, relacionados com polissacarídeos na membrana externa; antígenos flagelares H, relacionados com proteínas dos flagelos e, ainda, antígenos K relacionados com polissacarídeos capsulares. Foram, até ao momento, descritos 173 antígenos O, 56 H e 100 K diferentes.



O desenvolvimento da *E. coli* nos alimentos está condicionado a diversos factores, nomeadamente, a natureza do meio (pH de 4 a 9) e temperatura de desenvolvimento, estando compreendida entre 5°C e 50°C, para uma temperatura óptima de 37°C.

O significado da presença de *E. coli* num alimento pode ser avaliado sob dois aspectos. Primeiro a *E. coli*, não por ser uma *Enterobacteriaceae*, indica que o alimento tem uma contaminação microbiana fecal e, portanto, está em condições higiénicas insatisfatórias. O segundo aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogénicas para o homem e para os animais.

Um dos microrganismos mais frequentemente incriminados em gastroenterites em recém-nascidos, crianças e viajantes é a *E. coli*, da qual se conhecem alguns biótipos patogénicos oportunistas com patovariedades de seis tipos: enteropatogénicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enterotoxigénicas (ETEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroagregativas (EAEC) e (DAEC). As principais espécies de *Escherichia coli* relacionadas com as toxinfecções alimentares são a *E. coli* enterotoxigénica, e a *E. coli* enterohemorrágica. As estirpes que atingem o homem, são na sua maioria do hospedeiro humano e os alimentos de origem animal não desempenham grande papel na veiculação dos agentes, excepto quando os manipuladores os contaminam com as respectivas floras fecais, por falta de cumprimento das BPH (Filipe, 2005).

Alguns dos principais sintomas da doença são: diarreia, podendo igualmente acontecer que a diarreia tenha sangue, além de cólicas abdominais e dores violentas, febre e náuseas, sendo menos frequentes as câibras, as dores musculares, os calafrios e as cefaleias.

Vários surtos e casos pontuais associados ao consumo de alimentos contaminados com *E. coli* foram descritos nas últimas décadas. No entanto, os episódios atribuídos a *E. coli* O157:H7, pela sua severidade e elevada taxa de mortalidade, alertaram o público, as entidades de saúde pública e a indústria alimentar para o risco que esta bactéria representa.

A análise dos surtos causados por qualquer um dos tipos de *E. coli* revela que estes têm como primeira causa a contaminação fecal da água ou de alimentos devido a saneamentos deficientes, más práticas de higiene e higiene pessoal deficiente. No que se

refere aos problemas causados por *E. coli* O157:H7, os principais alimentos descritos foram carnes mal cozinhadas, principalmente de origem bovina (hambúrgueres), enchidos curados, alface, sumos de fruta não pasteurizados, queijo curado e leite cru (Carvalho, 2012).

Destaca-se que a presença de *E. coli* no alimento, indicia incumprimento das boas práticas de higiene e manipulação de alimentos, o que aumenta a probabilidade de ocorrência de surtos de toxinfecções alimentares.

#### **1.2.2.2.2. *Enterobacteriaceae***

*Enterobacteriaceae* são uma vasta família de bactérias gram-negativas, que inclui uma grande variedade de bactérias patogénicas. As bactérias da família de *Enterobacteriaceae* são muito conhecidas, algumas delas pertencem à microbiota normal dos intestinos de seres humanos e de igual forma à dos animais, como a *E. coli*, outras como habitantes do solo ou da água, e outras podem estar implicadas em vários processos patogénicos, incluindo por exemplo os géneros *Salmonella*, *Shigella* e a *Yersinia*.

Os membros desta família, são bastonetes gram negativos, medem em média 1-5µm de comprimento, são anaeróbios facultativos, e fermentam açúcares produzindo ácidos. Reduzem o nitrato a nitrito. Ao contrário da maioria de bactérias similares, as *Enterobacteriaceae* são oxidase negativas. A maioria tem muitos flagelos, usados para a sua locomoção, todavia alguns géneros como a *Shigella* são imóveis. Não formam esporos. No caso das saladas de vegetais crus, a sua quantificação é importante na avaliação da qualidade das mesmas, uma vez que é um bom indicador da qualidade higiénica da preparação das saladas.

#### **1.2.2.2.3. Microrganismos totais a 30°C**

Segundo a ICMSF (1984) o número de microrganismos aeróbios mesófilos (contagem em placa) encontrado num alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos de qualidade, mais comumente utilizados, indicando se a limpeza, desinfecção e controlo de temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento, foram realizados de forma adequada. Esta determinação permite também obter informação sobre a alteração incipiente dos alimentos, a sua provável vida útil e os desvios na temperatura de refrigeração estabelecidos.

No caso das saladas de vegetais crus, este parâmetro é de extrema importância na avaliação da qualidade das mesmas. Uma vez que não se consegue eliminar a carga microbiana na sua totalidade, existem valores máximos de referência, acima dos quais o produto é considerado insatisfatório.

### **1.3. FERRAMENTAS DE GESTÃO DA SEGURANÇA ALIMENTAR**

Para se atingir a tão desejada segurança alimentar é necessário serem aplicados determinados princípios ao longo de toda a cadeia alimentar, desde a produção primária até ao consumidor. De acordo com Forythe, (2002) para que tal suceda, é imprescindível a integração de ferramentas da qualidade, nomeadamente boas práticas de fabrico (BPF), boas práticas de higiene (BPH), análise de perigos e controlo dos pontos críticos (HACCP) e a avaliação do risco microbiológico (ARM).

#### **1.3.1. BOAS PRÁTICAS DE FABRICO E BOAS PRÁTICAS DE HIGIENE**

A aplicação das BPF e das BPH, aliadas aos testes microbiológicos do produto final, constitui uma dos principais sistemas de garantia da qualidade desenvolvidos pela indústria alimentar (Notermans *et al.*, 2002; Carvalho, 2012). As BPF abordam os princípios, os procedimentos, meios necessários para providenciar um ambiente adequado para a produção de alimentos com qualidade satisfatória. As BPH descrevem as medidas basilares de higiene que os estabelecimentos devem aplicar e manter, constituindo os pré-requisitos para outros sistemas, em particular o HACCP (Jouve *et al.*, 1998).

As BPF/BPH foram desenvolvidas e actualizadas ao longo do tempo, em resultado da vasta experiência das entidades governamentais, indústria alimentar, associações e grupos de trabalho, tendo sido publicados vários Códigos de Boas Práticas sectoriais, os quais descrevem pormenorizadamente as BPHF para os respectivos sectores. No caso da restauração, foi publicado em 2002, o Código de Boas Práticas para a Restauração Pública em Portugal.

Notermans *et al.*, 2002 descreve que o estabelecimento das BPF/BPH inclui vários requisitos, designadamente:

- Configuração e construção higiénica de instalações de produção de alimentos

- Configuração e construção higiénica e utilização adequada de equipamentos
- Procedimentos de limpeza, desinfeção e desinfestação
- Práticas gerais de higiene e segurança alimentar no processo produtivo

As BPF/BPH devem ser sempre aplicadas e documentadas, visto constituírem a base para a produção higiénica de alimentos. No entanto, o conceito das BPF/BPH é muito subjectivo e qualitativo nos seus benefícios, não tendo relação directa com o estado de segurança do produto. Por estas razões, o conceito foi alargado pela introdução do sistema HACCP, que procura, entre outras coisas, evitar o apoio em testes finais como meio de controlo (Jouve et al., 1998; Notermans *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Reforço, 2010). Tradicionalmente, a segurança do alimento era verificada por meios de análises do produto final para presença de patogénicos e suas toxinas. Contudo, este controlo reactivo não garantia a segurança alimentar, além de ser muito dispendioso.

### **1.3.2. ANÁLISE DE PERIGOS E CONTROLO DOS PONTOS CRÍTICOS (HACCP)**

Para dirigir e controlar com sucesso uma empresa, é necessário que ela seja gerida de uma forma, global, sistemática e transparente. O sucesso poderá ser consequência da implementação e manutenção de um sistema da gestão concebido para melhorar continuamente o seu desempenho, tomando em consideração as necessidades de todas as partes interessadas. A gestão de uma empresa inclui, entre outras vertentes, a gestão de qualidade dos seus produtos e/ou serviços (NP EN ISO 9000:2000).

O sistema HACCP foi originalmente desenvolvido pela Pilsburg Compyny, em colaboração com a NASA e os laboratórios do Exército dos EUA, para assegurar a segurança microbiológica dos alimentos fornecidos ao programa espacial. Nessa altura, na década de 60, foram reconhecidas as limitações no controlo baseado em testes microbiológicos do produto final, sendo então necessário uma abordagem preventiva na produção de alimentos seguros. Um sistema de engenharia conhecido como Failure, Mode and Effect Analysis (FMEA) foi utilizado como base para este conceito. No sistema FMEA, eram identificadas as falhas potenciais em cada etapa de uma operação, sendo accionados mecanismos para prevenir a ocorrência destas (Notermans *et al.*, 2002; Gaze *et al.*, 2002 e Morgado, 2007; Reforço, 2010). O sistema HACCP foi então

criado como uma abordagem estruturada para garantir a segurança de produtos alimentares específicos e os seus processos associados, o qual envolve a:

- Identificação de perigos potenciais
- Identificação de requisitos específicos para o seu controlo
- Medidas para a medição e avaliação contínua da eficácia do sistema

Assim, as etapas consideradas como críticas para o controlo dos perigos para a segurança alimentar são controladas através da monitorização de limites críticos das medidas de controlo. No caso de ocorrer um desvio de um limite crítico deve ser accionado um plano de acções correctivas predefinido (Notermans *et al.*, 2002; Gaze *et al.*, 2002 e Morgado, 2007).

O HACCP foi inicialmente utilizado para assegurar os perigos microbiológicos, tendo sido posteriormente aplicado aos perigos físicos e químicos. Nas últimas décadas, o HACCP foi reconhecido internacionalmente como o sistema de excelência da gestão da segurança alimentar na indústria alimentar. O sistema HACCP, é hoje, uma realidade em toda a EU, através da publicação do Regulamento n.º 852/2004 relativo à higiene dos géneros alimentícios, o qual no Artigo n.º 5, aplica a obrigatoriedade de todos os operadores económicos, incluídas as pequenas unidades de restauração, de implementarem sistemas de controlo, baseados nos princípios do HACCP.

Foram criados guias internacionais abrangendo o desenvolvimento, implementação e manutenção do HACCP pela Codex Alimentarius Commission (CAC) e National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Food (NACMCF), estando os seus princípios básicos e terminologia em concordância (Notermans *et al.*, 2002; CAC, 2003). Ambos identificaram sete princípios – chave:

- Princípio 1 – efectuar uma análise de perigos
- Princípio 2 – Determinar os pontos críticos de controlo (PCC)
- Princípio 3 – Estabelecer limites críticos de controlo
- Princípio 4 – Estabelecer um sistema de monitorização para os PCC
- Princípio 5 – Estabelecer a acção correctiva a efectuar quando a monitorização indica que um PCC está fora de controlo
- Princípio 6 – Estabelecer procedimentos de verificação para confirmar se o sistema funciona eficazmente
- Princípio 7 – Estabelecer documentação relativa a todos os procedimentos e registos apropriados para os princípios enunciados

Contudo, antes da implementação do HACCP, os princípios de higiene e as boas práticas devem estar operacionais de forma a uma base sólida para a aplicação eficaz do HACCP. Estas medidas, designadas, como programa de pré-requisitos (PPR) e devem controlar os perigos associados com a envolvente do estabelecimento de restauração (Notermans *et al.*, 2002; Bolton e Maunsell, 2004 e Morgado, 2007; Reforço, 2010), a saber:

- Requisitos estruturais e de equipamentos
- Códigos de Boas Práticas
- Higiene das instalações e equipamentos
- Controlo analítico
- Controlo de resíduos
- Controlo da qualidade da água
- Monitorização das temperaturas
- Controlo de pragas
- Controlo da qualidade dos óleos
- Manutenção preventiva dos equipamentos
- Rastreabilidade
- Avaliação e controlo de fornecedores
- Formação

O sucesso do PPR, requer o empenho de todos, chefias/responsáveis e operadores. Após a definição dos pré-requisitos a contemplar numa unidade de restauração, devem ser elaborados todos os procedimentos e documentos escritos, necessários à implementação do PPR, posteriormente deve-se informar e formar todos os colaboradores/manipuladores sobre os mesmos, e pôr em prática a sua execução. Estes devem ser revistos, sempre que se considere necessário ou serem ajustados à realidade da unidade. A verificação do PPR é basilar e passa pela realização de auditorias (internas ou externas) e controlo analítico.

Desta forma, o sistema HACCP centra-se nos perigos associados directamente com as etapas de produção de alimentos que se revelem críticas para a segurança, as outras etapas, que não forem reconhecidas como pontos críticos de controlo, a aplicação dos pré-requisitos garante que todos os outros aspectos relacionados com a segurança

alimentar são controlados (Notermans *et al.* 2002; Bolton e Maunsell, 2004 e Morgado, 2007), conforme ilustrado na Figura n.º1



**Figura n.º 1** - Diferenciação de perigos não significativos e significativos, e decisão sobre o respectivo controlo, através de pré-requisitos ou plano HACCP (Adaptado de Bolton e Maunsell, 2004; Morgado, 2007).

### 1.3.2.1. Metodologia de Implementação do HACCP

Os guias da CAC e da NACMCF também fornecem orientações para a aplicação do sistema HACCP, através de uma sequência de actividades para a aplicação dos sete princípios, etapas preconizadas pela CAC em 12 etapas, a saber:

1. Formação da equipa HACCP
2. Descrição do produto e do processo
3. Identificação do uso pretendido do produto
4. Elaboração de fluxogramas de processo
5. Verificação (*in loco*) do diagrama de fluxo e esquema da fábrica
6. Identificação dos perigos potenciais associados com cada etapa, efectuar uma análise de riscos e determinar as medidas de controlo dos perigos identificados (Princípio 1)
7. Determinação dos pontos críticos de controlo (Princípio 2)
8. Estabelecimento de limites críticos para cada PCC (Princípio 3)
9. Estabelecimento de um sistema de monitorização (Princípio 4)
10. Estabelecimento de medidas correctivas (Princípio 5)
11. Estabelecimento de procedimentos de verificação (Princípio 6)

## 12. Estabelecimento de um sistema de registos e documentação do HACCP (Princípio 7)

### **1.3.3. AVALIAÇÃO DO RISCO MICROBIOLÓGICO**

As mudanças nas técnicas de processamento e distribuição dos alimentos, assim como a emergência de novos microrganismos patogénicos, alteram a epidemiologia de doenças de origem alimentar (Jouve *et al.*, 1998; Forsythe, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012). Assim são necessárias novas estratégias para a avaliação e gestão dos riscos para a segurança alimentar associados com os perigos microbiológicos. A Avaliação do Risco Microbiológico (ARM) constitui um dos componentes de uma abordagem estruturada e formalizada que visa compreender e, quando necessário, reduzir o risco, conhecida como Análise do Risco (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012).

A Avaliação do Risco, com definida pela Comissão do Codex Alimentarius, consiste numa abordagem científica para estimar um risco e entender os factores que o influenciam, sendo o processo composto pelos seguintes elementos (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012):

- I. Identificação dos perigos
- II. Caracterização dos perigos
- III. Avaliação da exposição
- IV. Caracterização do risco

#### **1.3.3.1. Identificação dos Perigos**

A identificação dos perigos consiste na identificação dos agentes biológicos, e/ou dependendo do objectivo, químico ou físico que possam causar efeitos adversos à saúde do consumidor, devido à sua presença num alimento particular (CAC, 1999). A disponibilidade de dados de saúde pública e uma estimativa preliminar das fontes, frequência e quantidade do agente etiológico sob consideração nos alimentos são consideradas essenciais para a identificação de perigos. A informação reunida é mais tarde utilizada na avaliação de exposição, na qual o efeito do processamento, armazenagem e distribuição do alimento sobre o número de microrganismos é avaliado (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012).



### 1.3.3.2. Avaliação da Exposição

A avaliação da exposição consiste na avaliação qualitativa e/ou quantitativa da ingestão provável de agentes biológicos, químicos e físicos através do alimento, assim como a exposição a outras fontes relevantes (CAC, 1999). Esta etapa envolve a frequência ou probabilidade de ocorrência dos patogénicos nos alimentos, e a sua prevalência no alimento ao longo do tempo. O objectivo principal da avaliação de exposição é de estimar o nível de microrganismos ou toxinas microbianas no alimento no momento do consumo, sendo também considerados os padrões ou hábitos de consumo (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012).

### 1.3.3.3. Caracterização do Perigo

Este passo consiste na avaliação qualitativa e/ou quantitativa da natureza dos efeitos adversos associados a agentes biológicos, químicos ou físicos que podem estar presentes num alimento (Jouve *et al.*, 1998; CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007). Para agentes biológicos, os factores importantes a considerar relacionam-se com a fisiologia e virulência ou patogenicidade dos microrganismos, a dinâmica da infecção e a susceptibilidade do hospedeiro. Pode incluir uma avaliação da dose-resposta se os dados estiverem disponíveis. O objectivo é fornecer uma estimativa da natureza, gravidade e duração dos efeitos adversos, associados com agentes perigosos no alimento (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007, Amorim, 2012).

### 1.3.3.4. Caracterização do Risco

A caracterização do risco é a estimativa quantitativa e/ou qualitativa, incluindo as incertezas relacionadas, da probabilidade de ocorrência e gravidade dos efeitos adversos à saúde numa dada população com base na identificação do perigo, na caracterização do risco e na avaliação da exposição (CAC, 1999; Morgado, 2007; Amorim, 2012). Ou seja, envolve a integração da informação recolhida nas etapas anteriores para estimar o risco para uma população ou para um tipo particular de consumidor. O grau de confiança na estimativa final de risco depende da variabilidade, da incerteza e das suposições identificadas nas etapas prévias. A caracterização do risco, constitui a última etapa na avaliação do risco, da qual, uma estratégia de gestão de risco pode ser formulada (Jouve *et al.*, 1998; CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012).

O conhecimento de cada etapa é combinado para representar uma cadeia de causa-efeito a partir da prevalência e concentração de um patógeno até à probabilidade e magnitude dos efeitos adversos à saúde. Na avaliação do risco, o risco consiste tanto na probabilidade quanto ao impacto da doença. Portanto, a redução do risco pode ser alcançada pela redução da probabilidade da doença ou pela redução da sua gravidade (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007).

O HACCP constitui uma ferramenta de gestão de segurança alimentar que pode ser comparada de muitas formas à gestão do risco. Deve ser um sistema operacional prático que assegure a produção e manipulação de alimentos seguros numa unidade de produção em particular, com a identificação clara dos perigos potenciais nessa operação e a aplicação de medidas de controlo eficazes e apropriadas (Jouve *et al.*, 1998; CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012). Por sua vez, a avaliação do Risco Microbiológico consiste na análise por etapas de perigos que podem estar associados a um tipo particular de produto alimentar, permitindo uma estimativa da probabilidade de ocorrência de efeitos adversos à saúde (CAC, 1999; Forsythe, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Morgado, 2007; Amorim, 2012).

As unidades de restauração têm sido frequentemente associadas a surtos de toxinfecções alimentares. De forma a reduzir as contaminações ou a incidência destes surtos, é fundamental implementar sistemas de segurança alimentar, tal como o HACCP. A implementação do HACCP na restauração, não é tarefa fácil, devido ao facto de existirem múltiplas preparações em simultâneo, implicando um esforço adicional em muitas situações, contudo esse esforço é compensado através do sucesso alcançado com a segurança alimentar servida aos seus clientes/consumidores.

O sistema HACCP é um sistema de controlo da qualidade, moderno que se diferencia pela funcionalidade pró-activa, perfilando-se como atitude preventiva. De facto, a diferença fundamental entre este e o controlo da qualidade tradicional reside exactamente neste ponto, uma vez que o último se caracteriza por ser reactivo, consistindo numa avaliação da qualidade após processamento, o que permite uma actuação apenas *à posteriori*.

Reconhecendo as limitações dessas abordagens tradicionais, as empresas e mais especificamente, as unidades de restauração, têm procurado desenvolver sistemas de

controlo, capazes de garantir qualidade nas suas refeições, com o objectivo de atender um consumidor cada vez mais exigente e consciente dos seus direitos. Os programas da qualidade vêm de encontro a essa necessidade e têm sido adoptados com sucesso por várias empresas, inclusive da área hospitalar. Em consonância com a filosofia da qualidade total, o sistema HACCP, proposto pela OMS, representa importante ferramenta no controlo da qualidade higio-sanitária das refeições (Moreno, 2011).

Nesse sentido, e atendendo ao tipo de unidades objecto deste trabalho – restauração pública, apresenta-se no anexo I, um modelo de um plano HACCP passível de ser aplicado na restauração pública, nomeadamente na preparação de saladas de vegetais crus (alface e cenoura).

Deve-se ter sempre presente, que a segurança é o atributo de qualidade mais desejável. Assim, os produtos hortícolas devem ser isentos de toda e qualquer substância química que possa causar danos à saúde do consumidor. Os padrões de segurança são estabelecidos pela legislação em vigor, visando a preservação da saúde pública, com base na prevenção do desenvolvimento de microrganismos patogénicos ou prejudiciais, bem como na protecção contra a presença de substâncias tóxicas naturais ou contaminantes, tais como, os resíduos agrícolas ou de outros produtos.

#### **1.4. OBJECTIVOS**

O objectivo primordial deste estudo é a avaliação microbiológica de saladas preparadas na restauração pública. A relevância desta análise prende-se com o facto de muitos microrganismos estarem envolvidos em processos que causam efeitos indesejáveis nos próprios alimentos, ou na saúde dos consumidores, podendo causar a deterioração dos alimentos ou a ocorrência de doenças alimentares. Neste sentido, a vigilância microbiológica das saladas prontas a comer é fundamental e de elevado interesse.

Os alimentos em geral e, principalmente os que são consumidos crus são veículo de contaminação por bactérias patogénicas e/ou suas toxinas. Uma questão pertinente será até que ponto as saladas de vegetais crus não representam um risco para os consumidores?

Neste âmbito, realizou-se um estudo com o propósito de avaliar a qualidade e segurança microbiológica de saladas preparadas na restauração pública. Para tal, efectuou-se a

análise de saladas de vegetais crus (alface e cenoura). A selecção do tipo de saladas foi baseada em alguns factores de risco, nomeadamente das múltiplas preparações que ocorrem em simultâneo, preparações com elevada manipulação, preparações com alguma antecedência, contaminações cruzadas, utilização de utensílios mal higienizados, exposição prolongada a temperaturas inadequadas, após a sua preparação, entre outros.

Na avaliação microbiológica realizada pretende-se caracterizar a flora microbiana presente em saladas, detectar a presença de bactérias patogénicas tais como, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus* coagulase positiva e quantificar alguns indicadores de higiene, nomeadamente as *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e microrganismos totais a 30º, recorrendo a métodos microbiológicos clássicos.

Em complemento ao estudo foram realizados inquéritos a manipuladores de alimentos, que desenvolvem a sua actividade profissional no sector da restauração, com ênfase aos profissionais de cozinha. Pretendia-se com este inquérito conhecer a opinião destes profissionais relativamente aos riscos que para eles as saladas representam, ou a falta de conhecimentos dos riscos associados a estas, e em que condições de higiene e segurança alimentar as saladas são habitualmente preparadas nos diferentes locais de trabalho.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. AMOSTRAS**

Para a realização deste estudo foram analisadas amostras de alface e cenoura, prontas para consumo e sem tempero, servidas em 40 restaurantes da zona metropolitana de Lisboa.

De modo a ter um universo de amostras de alface e cenoura mais significativo (40 amostras de alface e 40 amostras de cenoura), foram também utilizados os resultados analíticos de duas empresas de consultadoria em Qualidade e Segurança Alimentar, a AQUIMISA sediada no interior do país e a SALIFORP sediada na zona metropolitana de Lisboa. Da AQUIMISA utilizaram-se 83 amostras de alface e 60 amostras de cenoura, enquanto da empresa SALIFORP utilizaram-se 50 amostras de alface e 6 amostras de cenoura.

Com os restaurantes que colaboraram e tornaram possível este estudo, foi estabelecido um acordo de anonimato. De forma a diferenciar as várias unidades, foi atribuída uma codificação numérica a cada uma. O número de ordem foi sequencial e ordenado conforme foram sendo efectuadas as recolhas de amostras.

#### **2.1.1. RECOLHA DE AMOSTRAS**

A recolha de amostras foi realizada segundo o procedimento descrito na Norma Portuguesa – NP 1828 de 1982 – MICROBIOLOGIA ALIMENTAR. Colheita de amostras para análise microbiológica.

As recolhas das amostras foram efectuadas no período compreendido entre Março e Setembro de 2009, sendo recolhida uma amostra de alface ripada/ partida e uma de cenoura ralada, em cada unidade. Os produtos foram recolhidos dos diferentes locais, em diferentes horários entre as 11 horas e as 15 horas. O horário escolhido para se efectuarem as recolhas de amostras teve por base o tipo de unidades, o tipo de serviço prestado, e as condições de armazenagem dos produtos preparados, entre outros.

Nas recolhas de amostras realizadas nos restaurantes utilizados no estudo, seguiu-se o procedimento descrito na referida norma, com o objectivo de cumprir as condições gerais e específicas a que deve obedecer a colheita de amostras.

As mesmas foram realizadas cumprindo todas as condições de assépsia:

- a) Os técnicos envolvidos na colheita estavam devidamente uniformizados (touca, bata e protecção nos pés)
- b) As amostras recolhidas foram representativas das características microbiológicas globais, ou seja, o mais homogénea possível
- c) A recolha foi efectuada de vários pontos do lote do produto a analisar
- d) A amostra foi constituída por porções colhidas em diferentes zonas, nas zonas superficiais, médias e profundas

Deste modo garantiu-se que a amostra recolhida é representativa do lote de salada a analisar.

As amostras foram colhidas em sacos esterilizados, próprios para colheita de amostras de alimentos, directamente da zona de preparação, numa quantidade de 100 gramas aproximadamente e devidamente identificadas.

### **2.1.2. TRANSPORTE DAS AMOSTRAS**

As amostras de alimentos recolhidas foram colocadas em mala isotérmica, entre termoacumuladores. O objectivo foi conservar as amostras até ao laboratório, a uma temperatura entre os 0 e os 4°C, de forma a evitar o desenvolvimento ou a destruição dos microrganismos antes da realização das análises.

As amostras foram enviadas para o Laboratório de Microbiologia da empresa AQUIMISA em Castelo Branco, onde foram analisadas, o qual está Acreditado pelo IPAC, de acordo com a norma NP EN ISO/IEC 17025 de 2000 – Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração.

O período entre a recolha das amostras e o início da análise microbiológica nunca excedeu as 24 horas. As amostras foram mantidas em refrigeração no laboratório até ao momento da análise.

### 2.1.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram realizadas as análises microbiológicas para a pesquisa de *Salmonella spp.*, e contagem de *Listeria monocytogenes* como critérios de segurança dos géneros alimentícios (fruta e produtos hortícolas pré - cortados).

Paralelamente foram realizadas análises microbiológicas para a contagem de *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, microrganismos totais a 30 °C e *Enterobacteriaceae* para uma melhor avaliação das condições hígio-sanitárias das amostras, embora a legislação em vigor só contemple como critério de higiene dos processos a contagem de *E. coli*.

O diploma legal que suporta as opções referidas anteriormente, é o Regulamento n.º 2073/2005 de 15 de Novembro, alterado no Anexo I pelo Regulamento n.º 1441/2007 de 5 de Dezembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, que estabelece critérios microbiológicos para certos microrganismos.

Para uma melhor avaliação das saladas em estudo, para além das análises de referência estabelecidas em legislação, complementou-se o estudo com outro tipo de análises. Por falta de legislação específica em relação às saladas de vegetais crus, utilizaram-se os valores guia – INSA, como base para a avaliação microbiológica de saladas.

As análises microbiológicas foram realizadas utilizando metodologias descritas em Normas Portuguesas ou Internacionais, específicas para cada microrganismo analisado, conforme será descrito ao longo deste capítulo.

### 2.1.4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A preparação das amostras foi realizada segundo o procedimento descrito na Norma Portuguesa – NP 1829 de 1982 – MICROBIOLOGIA ALIMENTAR. Preparação da amostra para análise microbiológica.

Segundo a norma, entende-se por preparação da amostra para análise microbiológica, o processo de a tornar apta à quantificação dos microrganismos nela existentes, por unidade de massa, e a sua caracterização.

A preparação das amostras foi realizada em condições de assépsia de modo a evitar qualquer contaminação e de forma a conduzir a uma perfeita uniformidade da distribuição dos microrganismos.

Para a análise de *Salmonella spp*, as amostras foram submetidas a pré-enriquecimento. Foram pesadas 25 gramas de cada amostra de alface e de cenoura para um frasco adicionando-se de seguida 225 ml de Água Peptonada Tamponada (APT).

Para a análise de *Listeria monocytogenes*, as amostras foram submetidas a um pré-enriquecimento, tendo-se pesado 25 gramas de cada amostra de alface e de cenoura para um frasco e adicionado 225 ml de meio Fraser.

Para a quantificação de *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e microrganismos totais a 30° fizeram-se diluições das amostras. Foram pesados 10 gramas de cada amostra de alface e de cenoura em saco próprio e adicionados 90 ml de diluente esterilizado (APT), homogeneizando em “Stomacker”. Obteve-se assim a suspensão-mãe, ou seja a diluição  $10^{-1}$ . A partir dessa diluição, foram feitas diluições decimais em série até à obtenção da diluição  $10^{-8}$ , sempre transferindo 1 ml de cada diluição para tubos esterilizados contendo 9 ml de diluente (APT).

A partir da suspensão mãe obtida examinou-se esta e/ou as suas suspensões para as pesquisas que se descrevem no ponto 3.1.5.

Os procedimentos descritos para a preparação da suspensão-mãe e pré-enriquecimentos, bem como a preparação das respectivas diluições e sementeiras, estão representados esquematicamente nas Figuras n.º 2 e n.º 3, as quais se apresentam de seguida.







## 2.1.5. ANÁLISE DAS AMOSTRAS

### 2.1.5.1. Pesquisa de *Salmonella* spp

A pesquisa de *Salmonella* spp foi de acordo com a Norma ISO 6579:2002 – Regras Gerais para Pesquisa de Salmonella.

A técnica de pesquisa de *Salmonella* spp foi a seguinte:

#### **Pré – enriquecimento**

A cultura mãe, em meio líquido não selectivo, foi incubada, de um dia para o outro, a uma temperatura de 37 °C.

#### **Enriquecimento Selectivo**

Inocularam-se 0,1 ml, com uma micropipeta, da cultura pré – enriquecida para um tubo com 10 ml de caldo Rappaport – Vassiliadis, e incubou-se a 41,5 °C durante 24 horas, e mais 24 horas.

Inoculou-se 1 ml, com uma micropipeta, da cultura pré – enriquecida para um tubo com 10 ml de caldo de Muller-Kauffmann, e incubou-se a 37 °C durante 24 mais 24 horas.

#### **Isolamento em meios selectivos**

Das culturas enriquecidas, retirou-se com uma ansa esterilizada 1 µl e esgotou-se por estria sobre o meio XLD agar (XLD) e Salmonella Shigella Agar Modified (SSA) em caixas de Petri, previamente seco durante 10 minutos a 50 °C. De seguida incubou-se a 37 °C durante 24 horas. Repetiu-se o procedimento de isolamento ao fim de mais 24 horas. Terminados os tempos de incubação, seleccionaram-se algumas colónias características, de cada um dos meios selectivos, repicaram-se 3 colónias de cada um dos meios para Agar Nutritivo (NA), após o que se incubou a 37°C, durante 24 horas.

As colónias típicas de *Salmonella* no meio de SSA apresentam-se transparentes e por vezes com centros negros. No meio de XLD as colónias apresentam um centro negro e halo avermelhado translúcido; se **H<sub>2</sub>S** (-) as colónias são rosa com centro rosa escuro; se **lactose** (+) as colónias são amarelas com ou sem escurecimento.

#### **Confirmação/Identificação**

Seleccionaram-se algumas colónias características das culturas obtidas e com um fio recto esterilizado transferiram-se 2 ou 3 colónias com a morfologia característica para

tubos com o meio de cultura Triple Sugar Iron (TSI) com rampa, por picada profunda central e estria recta na rampa. De seguida incubou-se a 37°C, durante 24 horas. As colónias típicas de *Salmonella* no meio de TSI apresentam rampa vermelha (alcalina) e o fundo amarelo (ácido) com a formação de gás e de H<sub>2</sub>S (enegrecimento do meio); se lactose (+) a rampa é amarela.

### **Confirmação bioquímica**

Das culturas obtidas no meio de TSI, suspeitas de *Salmonella*, procedeu-se à identificação bioquímica com o recurso às galerias API 20 E (Biomerieux), na qual foi inoculada a cultura e incubada a 37 °C, durante 24 horas.

Após o período de incubação, observaram-se as alterações, devidas à utilização dos meios de crescimento pela cultura e, compararam-se os resultados com as identificações descritas no manual do fabricante, identificando-se a cultura.

#### **2.1.5.2. Contagem de *Listeria monocytogenes***

A contagem de *Listeria monocytogenes* foi de acordo com a Norma ISO 11290 – 2: 2002 – Regras Gerais para Contagem de *Listeria monocytogenes*.

A técnica de contagem de *Listeria monocytogenes* foi a seguinte:

#### **Enriquecimento**

A cultura mãe obtida, em meio líquido de enriquecimento – Fraser Demi, foi incubada, durante 1 hora, a uma temperatura de 20 °C, para revivificação.

#### **Isolamento**

Retirou-se com uma micropipeta 1 µl da cultura enriquecida e semeou-se em meio ALOA e em meio de Rapid L`Mono (RLM). De seguida incubou-se a 37 °C, durante 24 – 48 horas.

Ao fim de 24 horas de incubação, seleccionaram-se algumas colónias com a morfologia característica do meio de isolamento de RLM e do meio de isolamento de ALOA e com o auxílio de ansa esterilizada transferiram-se 3 colónias de cada um dos meios para o meio de cultura de TSA. De seguida incubaram-se a 37 °C durante 24 horas. O procedimento de isolamento repete-se ao fim de 48 horas.

As colónias típicas de *Listeria* no meio de ALOA apresentam-se verdes/azuladas com halo. No meio de Rapid L`Mono apresentam-se pretas com ou sem halo. As colónias com a morfologia característica no meio de TSA apresentam-se escuras/negras.

### **Identificação**

De forma a distinguir as colónias suspeitas das eventuais contaminantes, realizaram-se testes de confirmação, a partir do isolado, nomeadamente:

#### **Teste da catalase**

Colocou-se uma gota de reagente de catalase sobre as colónias características, e emulsionando suavemente, observa-se rapidamente a eventual formação de bolhas de oxigénio. Sendo catalase positiva sempre que ocorra a formação de bolhas de gás.

#### **Teste da oxidase**

Colocaram-se 2 ou 3 gotas de reagente em papel de filtro, espalhou-se sobre este as colónias, com auxílio de vareta apropriada, e aguardaram-se alguns segundos. A reacção é positiva se aparecer cor púrpura ao fim de 10 segundos. As colónias com morfologia característica de *Listeria* são catalase positiva e oxidase negativa.

### **Isolamento**

Semearam-se as colónias previamente seleccionadas com auxílio de ansa esterilizada, em caixas de Petri contendo o meio de agar sangue, incubaram-se a 37 °C, durante 24 horas.

### **Identificação bioquímica**

Para as culturas obtidas no meio de agar sangue, e suspeitas de serem *Listeria*, procedeu-se à sua identificação bioquímica com o recurso às galerias API 10 *Listeria*, na qual foi inoculada a cultura, e incubada a 37 °C, durante 24 horas.

Após o período de incubação, observaram-se as alterações devidas à utilização dos meios de crescimento pela cultura e, compararam-se os resultados com as identificações descritas no manual do fabricante, identificando-se a cultura.

### **2.1.5.3. Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva**

A pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva foi feita de acordo com a Norma Portuguesa NP 4400 – 1: 2002 – Regras Gerais para contagem de Estafilococos coagulase positiva.

A técnica de pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva foi a seguinte:

Da suspensão mãe até à suspensão  $10^{-3}$ , semearam-se 0,1 ml para caixas de Petri, contendo o meio de cultura sólido Braid-Parker (BPA). O inóculo foi espalhado, sobre o meio sólido selectivo, com auxílio de um espalhador de vidro esterilizado, deixando-se secar as placas, fechadas, durante 15 minutos, à temperatura ambiente. De seguida incubaram-se as placas invertidas a 37 °C, durante 48 horas. Após o período de incubação, marcaram-se nas caixas, as colónias características e/ou não características eventualmente presentes (semelhantes às colónias características, mas sem halo transparente) e procedeu-se à confirmação das mesmas.

As colónias características de *Staphylococcus* no meio de cultura BPA apresentam-se negras, convexas, brilhantes, de diâmetro compreendido entre 1,5 e 2,5 mm, rodeadas de um precipitado branco e de halo transparente. Nesta zona clara pode aparecer um anel opalescente, em contacto com as colónias.

### **Confirmação**

#### **a) Teste da catalase**

Conforme descrito anteriormente (contagem de *Listeria monocytogenes*).

#### **b) Isolamento**

Repicaram-se as colónias previamente seleccionadas (catálase +), com auxílio de fio recto esterilizado, e semeou-se em tubo com o meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI), e incubou-se a 37 °C, durante 24 horas.

#### **c) Prova da coagulação**

Juntaram-se 0,1 ml da cultura obtida em BHI a 0,3 ml de plasma de coelho, em tubos esterilizados. Incubaram-se os tubos em estufa a 37 °C, durante 4 a 6 horas. Quando necessário, reincubaram-se e examinaram-se às 24 horas.

É considerada coagulase positiva quando o coágulo ocupa mais de  $\frac{3}{4}$  do volume, inicialmente ocupado pelo líquido.

#### **2.1.5.4. Contagem de *Escherichia coli***

A contagem de *E. coli* foi de acordo com a Norma Portuguesa NP 4396: 2002 – Regras Gerais para Contagem de *Escherichia coli*.

A técnica de contagem de *E. coli* foi a seguinte:

Da suspensão mãe até à suspensão  $10^{-3}$ , retirou-se 1 ml para caixas de Petri, verteu-se sobre as mesmas o meio de cultura TBX Agar (TBX), arrefecido a 48°C, e procedeu-se à mistura do inóculo com o meio de cultura girando as placas em movimentos adequados. Após a sementeira por incorporação no meio de cultura de isolamento, colocaram-se as placas invertidas a incubar em estufa a 44°C, durante 18 a 24 horas. Teve-se o cuidado de nunca exceder o período de incubação (24 horas), devido à possibilidade de desenvolvimento de outras *Enterobacteriaceae*.

Após o período de incubação, procedeu-se à contagem directa das unidades formadoras de colónias (ufc) características (azuis), para as diferentes diluições.

#### **2.1.5.5. Contagem de *Enterobacteriaceae***

A contagem *Enterobacteriaceae* foi de acordo com a Norma Portuguesa NP 4137: 1991 – Regras Gerais para Determinação de *Enterobacteriaceae* sem Revitalização e de Contagem de Colónias.

A técnica de contagem de *Enterobacteriaceae* foi a seguinte:

Da suspensão mãe até à suspensão  $10^{-5}$ , retirou-se 1 ml para caixas de Petri vertendo-se sobre as mesmas 15 ml do meio de cultura VRBG Agar, arrefecido a 45 °C, procedendo-se de seguida à mistura do inóculo com o meio de cultura girando as placas em movimentos adequados. Após solidificação do meio, acrescentaram-se mais 4 ml de meio de cultura à superfície do meio semeado, deixando-se de seguida solidificar.

Após a sementeira por incorporação no meio de cultura de isolamento, colocaram-se as placas invertidas a incubar em estufa a 37°C, durante 24 horas. A técnica descrita da sementeira da cultura no meio de cultura foi realizada em duplicado, conforme descrito na norma seguida. Para efeitos de controlo de esterilidade verteram-se 15 ml do meio de cultura (VRBG) para uma placa de Petri – placa testemunha. Após incubação em idênticas condições, não deve ocorrer crescimento.

### **Contagem e selecção das colónias**

Após o período de incubação, procedeu-se à contagem das colónias características de *Enterobacteriaceae*, considerando-se 2 placas que contivessem entre 15 e 150 colónias características. As colónias típicas de *Enterobacteriaceae* no meio de VRBG apresentam-se de cor rosa a vermelho com ou sem halo e com diâmetro superior a 0,5 mm. Após o período de incubação, seleccionaram-se algumas colónias características, a utilizar na confirmação.

### **Confirmação**

Das colónias suspeitas de serem *Enterobacteriaceae*, escolheram-se 5, que se semearam, por estria, em placas de Petri contendo o meio de cultura de agar nutritivo, a fim de se proceder à confirmação bioquímica das colónias obtidas. As placas de Petri semeadas foram incubadas a 37°C, durante 24 horas. Os ensaios efectuaram-se a partir de uma unidade formadora de colónia bem isolada.

### **Confirmação bioquímica**

#### **Ensaio de fermentação**

As colónias características seleccionadas foram repicadas com o auxílio de fio recto esterilizado para tubos com o meio de cultura Agar Glucosado, por picada profunda central. De seguida incubaram-se a 37°C, durante 24 horas.

São colónias típicas presumíveis de serem *Enterobacteriaceae* se o ensaio da fermentação é positivo, o que é indicado pela cor amarela na totalidade do tubo, com ou sem produção de gás.

#### **Teste da oxidase**

Conforme descrito anteriormente (contagem de *Listeria monocytogenes*).

A confirmação foi obtida através da realização do ensaio da fermentação e do teste da oxidase. Foram contempladas colónias presumíveis de ser *Enterobacteriaceae* se o teste da fermentação deu reacção positiva e o teste do citocromo oxidase deu oxidase negativa.

#### **2.1.5.6. Contagem de microrganismos totais a 30°C**

A contagem de microrganismos totais foi de acordo com a Norma Portuguesa NP 4505: 2002 – Regras Gerais para Contagem de Microrganismos a 30°C.



A técnica de contagem de microrganismos totais a 30 °C foi a seguinte:

Da suspensão  $10^{-3}$  até à  $10^{-8}$ , retirou-se 1 ml para caixas de Petri, verteu-se sobre as mesmas o meio de cultura Plate Count Agar (PCA), arrefecido a 48 °C, e procedeu-se à mistura do inoculo com o meio de cultura girando as placas em movimentos adequados. Após a sementeira por incorporação no meio de cultura de isolamento, colocaram-se as placas invertidas a incubar em estufa a 30°C, durante 72 horas. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem directa das ufc.

### **2.1.6. LAVAGEM E ESTERILIZAÇÃO DO MATERIAL**

Todo o material de vidro e plástico foi lavado com água e detergente apropriado sendo os últimos enxaguamentos efectuados com água desionizada, seguindo-se a secagem em estufa a 100°C. Após a secagem o material foi preparado convenientemente, ou seja, colocado em caixas, embrulhado em papel ou colocado em cestos. Após a preparação do material, este foi esterilizado. O ciclo de esterilização é realizado a seco, em estufa a 180°C, durante 1 hora.

### **2.1.7. PREPARAÇÃO E ARMAZENAGEM DOS MEIOS DE CULTURA E DILUENTES**

Os meios de cultura e diluentes foram preparados de acordo com as instruções do fabricante e esterilizados em autoclave a 121 °C, durante 15 minutos. Após a esterilização, os meios de cultura e diluentes foram arrefecidos e armazenados em local apropriado a  $3\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ .

## **2.2. INQUÉRITO**

### **2.2.1. OBTENÇÃO DE DADOS**

Os dados foram obtidos pela realização de inquéritos a profissionais do sector da restauração pública, que frequentavam acções de formação em Higiene e Segurança Alimentar a decorrer quer em escolas de formação na área, quer em empresas de formação profissional.

O inquérito foi realizado na primeira sessão da acção de formação, para que os dados não fossem influenciados pelos conhecimentos entretanto adquiridos, no decorrer da formação.

O inquérito foi realizado durante o período de Junho de 2007 a Setembro de 2009, sempre nas mesmas condições, tendo sido validados 153 inquéritos.

O questionário foi concebido, tendo por base, os diversos factores críticos previamente identificados na revisão bibliográfica e, também, na experiência profissional, na área da restauração e da formação profissional, o qual se apresenta no anexo II.

#### **2.2.1.1. Questionário**

O questionário foi baseado em Magalhães Hill & Anderw (1998), e constituído na sua maioria por perguntas fechadas. Foi decidido seguir esta metodologia, de forma a facilitar a análise estatística dos dados obtidos.

Foi ainda acrescentada uma pergunta aberta de opinião, com a intenção de complementar a informação obtida, de uma forma mais detalhada, bem como analisar a forma como os profissionais lidam na prática com a produção e distribuição das saladas.

O inquérito foi dividido em três secções:

1ª Parte:

Perguntas fechadas, para a obtenção dos dados sobre a identificação e caracterização dos entrevistados e dos estabelecimentos onde exerciam a sua actividade.

2ª Parte:

1- Perguntas fechadas, de âmbito técnico, tendo como objectivo obter dados sobre as condições de produção e distribuição das saladas, boas práticas de produção das saladas, monitorização de tempos e temperaturas de exposição das saladas, metodologias de controlo da segurança alimentar.

2 – Perguntas fechadas, de opinião, para obter dados sobre a percepção dos entrevistados, em relação ao risco que as saladas representam para a saúde pública.

3ª Parte

Pergunta aberta, de opinião, para obter dados sobre os principais cuidados tidos na produção das saladas (alface e cenoura).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. RESULTADOS ANALÍTICOS

O objectivo primordial deste estudo era a avaliação da qualidade microbiológica de saladas recolhidas na restauração pública, nomeadamente salada de alface e de cenoura. Nesse âmbito, analisou-se 40 amostras de cada e como era inviável analisar mais amostras, e o número de amostras alvo de estudo não ser muito significativo, optou-se por utilizar dados de duas empresas de consultadoria.

Com a utilização desses dados, pretendia-se que o universo de amostras alvo fosse mais representativo, apresentando uma imagem mais aproximada da realidade (alface  $n = 179$ ; cenoura  $n = 106$ ). Tal não foi possível, por não haver uniformidade de parâmetros analisados, contudo efectuou-se uma análise global nas amostras que analisaram os parâmetros estabelecidos na legislação em vigor. Sendo o objecto de estudo a restauração pública, só foram utilizados dados (provenientes das duas empresas) de amostras recolhidas neste tipo de estabelecimentos.

Como forma a facilitar a análise dos resultados obtidos, a apresentação dos mesmos foi dividida, os primeiros provenientes das análises realizadas e os segundos provenientes das empresas de consultoria.

De modo, a efectuar-se um estudo o mais homogéneo possível, optou-se por unidades com características idênticas, quanto ao tipo de serviço prestado e número médio de refeições servidas. Foram utilizadas unidades que trabalham essencialmente com pratos do dia, que na maioria das vezes são acompanhadas por saladas, servindo uma média de 80 a 100 refeições, no período do almoço.

Os restaurantes utilizados para este estudo são unidades de dimensão média, trabalhando essencialmente no período do almoço. Do universo das unidades objecto deste estudo, apenas 40% serve jantares.

A opção de analisar salada de alface e de cenoura prendeu-se ao facto dos operadores económicos que colaboraram neste projecto, referirem que as mesmas são as mais apreciadas pelos consumidores, desde as crianças até aos jovens com mais de 65 anos.

Os resultados utilizados das empresas são de saladas (alface e cenoura), nas mesmas condições das saladas estudadas para esta avaliação, e recolhidas em restaurantes que têm o sistema de segurança alimentar – HACCP implementado, ou em fase de implementação por técnicos qualificados. Para facilitar o tratamento dos dados foi atribuída uma codificação às empresas, sendo estas referidas no estudo como empresa A e empresa B. De forma a uniformizar os resultados obtidos, utilizaram-se os dados das duas empresas no período compreendido entre 2004 e de 2009. Da empresa A obtiveram-se resultados de 83 amostras de alface e 60 amostras de cenoura, enquanto da empresa B utilizaram-se os resultados de 50 amostras de alface e 6 amostras de cenoura.

Apesar da legislação impor para os vegetais crus, como critério de segurança dos géneros alimentícios, a pesquisa de *Salmonella spp* e contagem de *Listeria monocytogenes* e como critério de higiene dos processos a contagem de *E. coli*, optou-se por realizar análises a outros parâmetros, por se considerar que são fundamentais na avaliação microbiológica de saladas de vegetais crus. Nesse sentido, incluiu-se a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, a contagem de *Enterobacteriaceae* e de microrganismos totais a 30 °C.

Contemplou-se os *Staphylococcus* coagulase positiva, por serem um agente patogénico frequentemente associado às doenças de origem alimentar e quando presente, normalmente indicam más práticas de manipulação dos alimentos por parte dos manipuladores; os outros parâmetros contemplaram-se como indicadores de higiene dos processos.

### **3.1.1. RESULTADOS DAS AMOSTRAS ANALISADAS**

Os resultados analíticos das análises microbiológicas realizadas apresentam-se na tabela n.º 2 e tabela n.º 3.

Tabela n.º 2 - Resultados das análises microbiológicas à alface

Amostra	Microrganismos					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Contagem <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	Contagem de <i>E. coli</i>	Contagem de microrganismos totais a 30 °C
1	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,4 \times 10^4 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,5 \times 10^6 / g$
2	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,3 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,2 \times 10^6 / g$
3	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,9 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,4 \times 10^5 / g$
4	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,8 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,8 \times 10^5 / g$
5	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$5,6 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$9,4 \times 10^4 / g$
6	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>3,6 \times 10^6 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>&gt;3,0 \times 10^9 / g</math></b>
7	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>8,6 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>&gt;3,0 \times 10^9 / g</math></b>
8	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,5 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$7,2 \times 10^5 / g$
9	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>2,1 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$8,8 \times 10^6 / g$
10	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^3 / g</math></b>	<b><math>2,5 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>&gt;3,0 \times 10^7 / g</math></b>
11	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>1,0 \times 10^7 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	$8,7 \times 10^6 / g$
12	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,3 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,2 \times 10^6 / g$
13	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$2,0 \times 10 / g$	<b><math>7,2 \times 10^6 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	<b><math>&gt;3,0 \times 10^9 / g</math></b>
14	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^3 / g</math></b>	<b><math>2,5 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$9,5 \times 10^5 / g$
15	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,7 \times 10^4 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,6 \times 10^4 / g$
16	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^3 / g</math></b>	<b><math>2,5 \times 10^6 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$9,2 \times 10^6 / g$
17	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$2,0 \times 10 / g$	<b><math>7,2 \times 10^6 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	<b><math>3,0 \times 10^7 / g</math></b>
18	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>1,3 \times 10^5 / g</math></b>	$1,0 \times 10 / g$	<b><math>7,0 \times 10^7 / g</math></b>
19	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^2 / g</math></b>	<b><math>8,7 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>8,9 \times 10^7 / g</math></b>
20	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>5,3 \times 10^5 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	$7,1 \times 10^6 / g$
21	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>3,4 \times 10^6 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$5,6 \times 10^6 / g$
22	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$5,0 \times 10 / g$	<b><math>2,0 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$1,8 \times 10^6 / g$
23	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,3 \times 10^6 / g</math></b>	<b><math>&gt;1,5 \times 10^7 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	<b><math>2,8 \times 10^8 / g</math></b>
24	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>1,5 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$8,1 \times 10^6 / g$
25	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>1,3 \times 10^6 / g</math></b>	$6,0 \times 10 / g$	$2,0 \times 10^6 / g$
26	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^2 / g</math></b>	<b><math>1,0 \times 10^7 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	$8,7 \times 10^6 / g$
27	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$8,0 \times 10 / g$	<b><math>3,4 \times 10^6 / g</math></b>	$2,0 \times 10^2 / g$	<b><math>&gt;3,0 \times 10^9 / g</math></b>
28	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^2 / g</math></b>	<b><math>1,0 \times 10^7 / g</math></b>	$8,0 \times 10 / g$	<b><math>3,0 \times 10^7 / g</math></b>
29	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>7,4 \times 10^5 / g</math></b>	$6,0 \times 10 / g$	$2,7 \times 10^6 / g$
30	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$5,2 \times 10^4 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,3 \times 10^5 / g$
31	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>5,0 \times 10^6 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>4,5 \times 10^7 / g</math></b>
32	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>1,4 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$1,6 \times 10^6 / g$
33	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>9,6 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$5,5 \times 10^6 / g$
34	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,1 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$6,6 \times 10^5 / g$
35	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,6 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,4 \times 10^4 / g$
36	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>8,6 \times 10^5 / g</math></b>	$6,0 \times 10 / g$	<b><math>&gt;3,0 \times 10^9 / g</math></b>
37	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>3,2 \times 10^5 / g</math></b>	$1,1 \times 10^2 / g$	<b><math>3,4 \times 10^7 / g</math></b>
38	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	<b><math>1,0 \times 10^3 / g</math></b>	<b><math>2,6 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$3,3 \times 10^6 / g$
39	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>5,0 \times 10^6 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>4,5 \times 10^7 / g</math></b>
40	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	<b><math>1,4 \times 10^5 / g</math></b>	$<1,0 \times 10 / g$	$1,6 \times 10^6 / g$

Tabela n.º 3 - Resultados das análises microbiológicas à cenoura

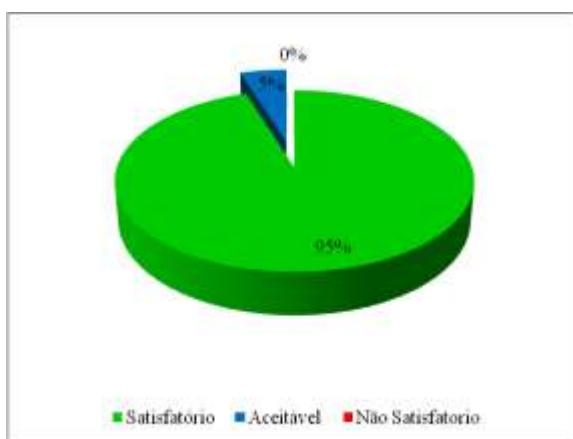
Amostra	Microrganismos					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Contagem <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	Contagem de <i>E. coli</i>	Contagem de microrganismos totais a 30 °C
1	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,4 \times 10^6 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,0 \times 10^6 / g$
2	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1 \times 10 / g$	$8,3 \times 10^6 / g$	$1,1 \times 10^3 / g$	$>3,0 \times 10^9 / g$
3	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$7,9 \times 10^5 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,1 \times 10^7 / g$
4	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,9 \times 10^5 / g$	$3,0 \times 10^2 / g$	$1,9 \times 10^8 / g$
5	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,2 \times 10^6 / g$	$6,0 \times 10 / g$	$5,4 \times 10^6 / g$
6	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,9 \times 10^6 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,0 \times 10^7 / g$
7	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,5 \times 10^6 / g$	$6,0 \times 10 / g$	$7,2 \times 10^7 / g$
8	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,9 \times 10^7 / g$	$5,6 \times 10^3 / g$	$5,5 \times 10^7 / g$
9	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,2 \times 10^6 / g$	$6,0 \times 10 / g$	$5,4 \times 10^6 / g$
10	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$6,7 \times 10^6 / g$	$8,0 \times 10 / g$	$3,5 \times 10^6 / g$
11	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$>1,0 \times 10^4 / g$	$7,4 \times 10^5 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,5 \times 10^6 / g$
12	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$>1,5 \times 10^7 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,0 \times 10^9 / g$
13	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,0 \times 10^8 / g$	$1,4 \times 10^2 / g$	$3,0 \times 10^8 / g$
14	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,3 \times 10^6 / g$	$1,0 \times 10 / g$	$5,4 \times 10^6 / g$
15	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,9 \times 10^6 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,8 \times 10^6 / g$
16	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,5 \times 10^6 / g$	$6,0 \times 10 / g$	$7,2 \times 10^6 / g$
17	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,3 \times 10^5 / g$	$1,4 \times 10^2 / g$	$1,6 \times 10^8 / g$
18	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$<1,5 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,2 \times 10^4 / g$
19	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,7 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,0 \times 10^4 / g$
20	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,2 \times 10^5 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,0 \times 10^7 / g$
21	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$5,1 \times 10^3 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$5,0 \times 10^5 / g$
22	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,3 \times 10^5 / g$	$5,3 \times 10^2 / g$	$1,1 \times 10^7 / g$
23	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,3 \times 10^6 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,6 \times 10^5 / g$
24	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,6 \times 10^5 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$>3,0 \times 10^8 / g$
25	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,3 \times 10^7 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$>3,0 \times 10^8 / g$
26	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,3 \times 10^6 / g$	$6,0 \times 10 / g$	$2,0 \times 10^6 / g$
27	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,4 \times 10^7 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,0 \times 10^9 / g$
28	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,3 \times 10^6 / g$	$2,0 \times 10 / g$	$>3,0 \times 10^9 / g$
29	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,0 \times 10^7 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$8,7 \times 10^6 / g$
30	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$5,6 \times 10^5 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,6 \times 10^5 / g$
31	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$>1,5 \times 10^7 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$3,2 \times 10^7 / g$
32	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$>1,5 \times 10^7 / g$	$2,1 \times 10^2 / g$	$8,5 \times 10^8 / g$
33	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$>1,5 \times 10^7 / g$	$1,0 \times 10^2 / g$	$1,8 \times 10^8 / g$
34	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,3 \times 10^4 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,5 \times 10^7 / g$
35	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$<1,5 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$2,5 \times 10^7 / g$
36	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,4 \times 10^6 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,0 \times 10^6 / g$
37	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1 \times 10 / g$	$8,3 \times 10^6 / g$	$1,1 \times 10^3 / g$	$3,0 \times 10^7 / g$
38	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$7,4 \times 10^5 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$4,5 \times 10^6 / g$
39	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$>1,0 \times 10^4 / g$	$>1,5 \times 10^7 / g$	$>1,5 \times 10^3 / g$	$3,0 \times 10^9 / g$
40	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10^2 / g$	$<1,0 \times 10 / g$	$1,0 \times 10^8 / g$	$1,4 \times 10^2 / g$	$7,7 \times 10^8 / g$

Os resultados expressos na tabela n.º 2 e na tabela n.º 3 foram analisados sob dois pontos vista, um de acordo com os critérios legais, tendo por base o Regulamento n.º 2073/2005 e outro critério mais alargado. De acordo com os critérios legais, todas as

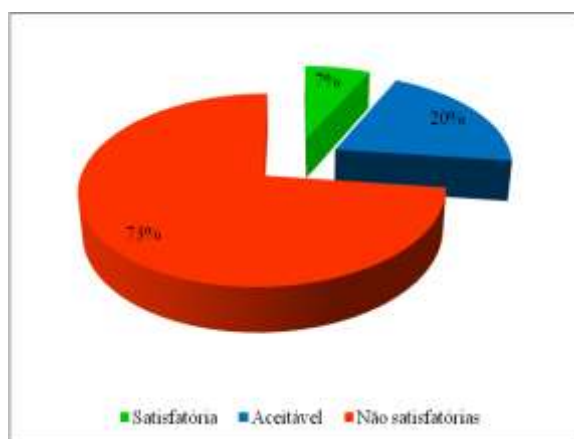
amostras de alface são aptas para consumo humano (gráfico n.º 5) e 10% das amostras de cenoura são não satisfatórias (gráfico n.º 7).

Ao alargamos o critério de análise, tendo como base de apreciação os valores guia para avaliação microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimento de restauração do INSA – Grupo 3 Saladas, a apreciação altera significativamente. No caso da alface, somente 11 amostras de alface (27 %) são aptas para consumo e 29 amostras (73%) são não satisfatórias (gráfico n.º 6). Em relação à cenoura, somente 2 amostras (5 %) são satisfatórias, aptas para consumo (7%) e as restantes 35 amostras (88%) são não satisfatórias (gráfico n.º8).

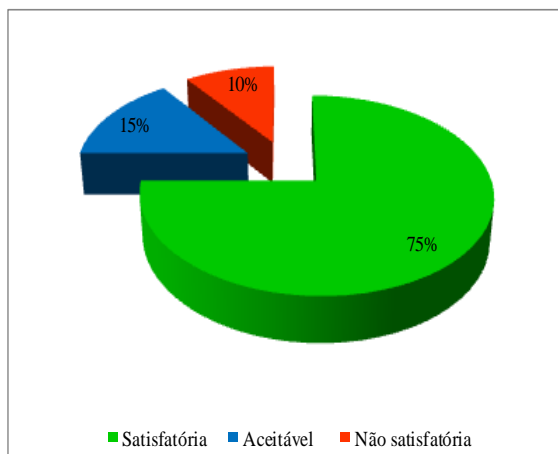
**Gráfico n.º 5 - Apreciação das saladas de alface, segundo o Reg. n.º 2073/2005**



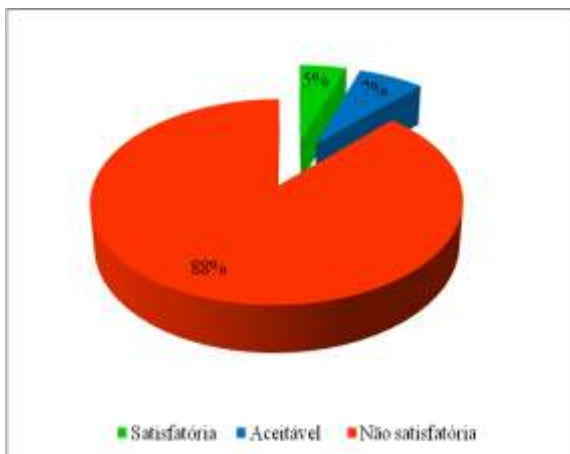
**Gráfico n.º 6 - Apreciação das saladas de alface, segundo os valores guia do INSA**



**Gráfico n.º 7 - Apreciação das saladas de cenoura, segundo o Reg. n.º 2073/2005**



**Gráfico n.º 8 - Apreciação das saladas de cenoura, segundo os valores guia do INSA**



### 3.1.2. RESULTADOS DAS AMOSTRAS FORNECIDOS

Os resultados analíticos das amostras de alface e cenoura fornecidos pelas empresas, apresentam-se nas tabelas n.º 4 e n.º 5.

Tabela n.º 4 - Resultados das análises microbiológicas à alface fornecidos

Amostra	ENSAIOS					
	Pesquisa/Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Contagem de Microrganismos totais a 30° C	Contagem de <i>E. coli</i>	Contagem de Bolores e Leveduras
1	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	4,0 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g	8,3 x 10 <sup>4</sup> / g
2	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
3	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
4	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
5	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	8,9 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
6	-	Negativa em 25 g	2,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
7	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
8	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
9	<b>Presença em 25 g</b>	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
10	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	3,1 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
11	-	Negativa em 25 g	-	3,1 x 10 <sup>5</sup> / g	4,0 x 10 / g	-
12	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
13	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
14	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	3,7 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
15	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
16	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
17	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	1,8x 10 <sup>6</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
18	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	2,8x 10 <sup>6</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
19	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
20	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
21	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
22	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	6,8 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g	8,3 x 10 <sup>4</sup> / g
23	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<b>1,3 x 10<sup>6</sup> / g</b>	-	4,9 x 10 <sup>2</sup> / g	-
24	-	Negativa em 25 g	1,4 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-
25	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	1,2 x 10 <sup>2</sup> / g	-
26	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
27	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
28	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
29	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
30	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	6,5 x 10 <sup>2</sup> / g	-
31	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
32	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
33	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
34	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
35	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	4,2 x 10 <sup>2</sup> / g	-
36	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
37	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
38	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
39	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	1,3 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g	8,3 x 10 <sup>4</sup> / g
40	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	3,4 x 10 <sup>6</sup> / g	7,0 x 10 / g	8,3 x 10 <sup>4</sup> / g
41	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	8,2 x 10 <sup>2</sup> / g	-
42	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	1,3 x 10 <sup>2</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
43	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	1,4 x 10 <sup>2</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
44	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
45	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	1,3 x 10 <sup>4</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
46	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	6,0 x 10 / g	-
47	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	1,3 x 10 <sup>6</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-
48	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	1,3 x 10 <sup>7</sup> / g	3,5 x 10 <sup>2</sup> / g	-
49	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	<1,0 x 10 / g	-
50	-	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	1,3 x 10 <sup>7</sup> / g	<1,0 x 10 / g	-



Amostra	ENSAIOS					
	Pesquisa/Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Contagem de Microrganismos totais a 30° C	Contagem de <i>E. coli</i>	Contagem de Bolores e Leveduras
51	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
52	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
53	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
54	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
55	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
56	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
57	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
58	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	2,0 x 10 / g
59	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	2,0 x 10 / g
60	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	1,9 x 10 <sup>2</sup> / g
61	Negativa em 25 g	-	<1,0 x 10 / g	-	2,2 x 10 <sup>6</sup> / g	<1,0 x 10 / g
62	Negativa em 25 g	-	<1,0 x 10 / g	-	4,3 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g
63	Negativa em 25 g	-	<1,0 x 10 / g	-	3,7 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g
64	Negativa em 25 g	-	<1,0 x 10 / g	-	4,0 x 10 <sup>2</sup> / g	4,0 x 10 / g
65	Negativa em 25 g	-	<1,0 x 10 / g	-	1,0 x 10 <sup>4</sup> / g	<1,0 x 10 / g
66	Negativa em 25 g	-	<1,0 x 10 / g	-	4,8 x 10 <sup>5</sup> / g	<1,0 x 10 / g
67	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
68	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
69	<b>Positiva em 25 g</b>		<1,0 x 10 / g	-	-	2,0 x 10 / g
70	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
71	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
72	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
73	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
74	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
75	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
76	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
77	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
78	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
79	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	7,0 x 10 / g
80	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	2,0 x 10 / g
81	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
82	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
83	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	6,0 x 10 / g
84	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
85	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
86	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
87	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	5,0 x 10 / g
88	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
89	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
90	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
91	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
92	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
93	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
94	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
95	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
96	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
97	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
98	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
99	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
100	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
101	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
102	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
103	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	1,0 x 10 / g
104	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
105	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
106	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
107	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g

*Avaliação da Qualidade Microbiológica de Saladas Preparadas na Restauração Pública*

Amostra	ENSAIOS					
	Pesquisa/Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Contagem de Microrganismos totais a 30° C	Contagem de <i>E. coli</i>	Contagem de Bolores e Leveduras
108	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
109	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
110	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
111	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
112	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
113	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
114	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
115	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
116	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
117	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	9,0 x 10 / g
118	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	8,0 x 10 / g
119	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
120	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
121	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
122	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	<1,0 x 10 / g	-	-	<1,0 x 10 / g
123	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
124	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
125	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
126	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	-	<1,0 x 10 / g
127	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	Negativa em 25 g	-	-	>1,5 x 10 <sup>7</sup> / g	<1,0 x 10 / g
128	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-	8,7 x 10 <sup>6</sup> / g	<1,0 x 10 / g
129	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-	2,3 x 10 <sup>2</sup> / g	<1,0 x 10 / g
130	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-	1,2 x 10 <sup>7</sup> / g	2,2 x 10 <sup>2</sup> / g
131	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-	>1,5 x 10 <sup>7</sup> / g	<1,0 x 10 / g
132	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-	6,2x 10 <sup>2</sup> / g	<1,0 x 10 / g
133	<1,0 x 10 <sup>2</sup> / g	-	<1,0 x 10 / g	-	7,1x 10 <sup>4</sup> / g	<1,0 x 10 / g

Nota: - Parâmetro não realizado

Tabela n.º 5 - Resultados das análises microbiológicas à cenoura fornecidos

Amostra	ENSAIOS						
	Pesquisa/Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Contagem de <i>B. anae.</i> Sulfito redutores	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coag. Positiva	Contagem de Microrganismos a 30° C	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	Contagem de <i>E. coli</i>
1	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	$7,2 \times 10^5$ / g	$<1,0 \times 10$ / g	-
2	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	$2,4 \times 10^7$ / g	$<1,0 \times 10$ / g	-
3	-	Negativa em 25 g	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$<1,0 \times 10$ / g	-
4	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$<1,0 \times 10$ / g	-
5	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	$<1,0 \times 10$ / g	$1,1 \times 10^7$ / g	$<1,0 \times 10$ / g	$8,3 \times 10^4$ / g
6	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$8,2 \times 10^2$ / g	-
7	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$7,4 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
8	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$5,6 \times 10^3$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
9	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10^2$ / g	-	$1,6 \times 10^8$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
10	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	-	-
11	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	$2,5 \times 10^7$ / g	$1,6 \times 10^6$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
12	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	$8,5 \times 10^8$ / g	$5,3 \times 10^7$ / g	-
13	<b>Presente em 25 g</b>	Negativa em 25 g	$3,2 \times 10^2$ / g	$<1,0 \times 10$ / g	-	-	$3,7 \times 10^2$ / g
14	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10$ / g	-	-	-	$9,0 \times 10^1$ / g
15	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10$ / g	-	-	-	$1,9 \times 10^2$ / g
16	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	$<1,0 \times 10$ / g	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
17	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^6$ / g	$4,0 \times 10$ / g
18	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>3,6 \times 10^6$ / g	$4,0 \times 10$ / g
19	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$2,0 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
20	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$6,7 \times 10^6$ / g	$4,0 \times 10$ / g
21	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$2,7 \times 10^5$ / g	$4,0 \times 10$ / g
22	<b>Positiva em 25 g</b>	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$8,4 \times 10^6$ / g	$1,1 \times 10^2$ / g
23	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$5,9 \times 10^2$ / g
24	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$1,4 \times 10^6$ / g	$1,0 \times 10$ / g
25	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$4,0 \times 10$ / g
26	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$9,6 \times 10^6$ / g	$1,0 \times 10$ / g
27	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
28	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$1,0 \times 10$ / g
29	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
30	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
31	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$7,3 \times 10^5$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
32	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$1,5 \times 10^6$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
33	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^7$ / g	$1,0 \times 10$ / g
34	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$8,7 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
35	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$4,6 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
36	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$6,3 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
37	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
38	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
39	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
40	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	--	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
41	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
42	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
43	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
44	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
45	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$1,0 \times 10^2$ / g
46	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
47	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
48	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
49	$<1,0 \times 10^2$ / g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
50	$<1,0 \times 10^2$ / g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
51	$<1,0 \times 10^2$ / g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
52	<b>Positiva em 25 g</b>	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$9,8 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
53	<b>Positiva em 25 g</b>	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$2,3 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
54	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$4,0 \times 10^4$ / g	$2,3 \times 10^2$ / g
55	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$2,9 \times 10^5$ / g	$4,0 \times 10$ / g
56	Negativa em 25 g	-	-	$>1,5 \times 10^3$ / g	-	$>1,5 \times 10^6$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
57	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$>1,5 \times 10^5$ / g	<b><math>&gt;1,5 \times 10^3</math> / g</b>
58	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$1,6 \times 10^4$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
59	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$4,5 \times 10^5$ / g	$2,0 \times 10$ / g
60	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$1,7 \times 10^2$ / g	$2,0 \times 10$ / g
61	<b>Positiva em 25 g</b>	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$3,3 \times 10^2$ / g
62	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
63	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
64	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	-	$<1,0 \times 10$ / g
65	Negativa em 25 g	Negativa em 25 g	-	-	-	$4,3 \times 10^3$ / g	$<1,0 \times 10$ / g
66	Negativa em 25 g	-	-	$<1,0 \times 10$ / g	-	$2,9 \times 10^5$ / g	$2,5 \times 10^2$ / g

Nota: - Parâmetro não realizado

Analisando os resultados analíticos obtidos nas amostras de alface, e para uma maior coerência de análise dos mesmos, optou-se por efectuar uma avaliação microbiológica tendo por base o Regulamento n.º 2073/2005. Uma vez que, não foram realizados os mesmos parâmetros em todas as amostras, o que torna inviável uma análise comparativa entre as amostras objecto de estudo. Do universo global analisado (133 amostras), 86% amostras são satisfatórias, 7% são aceitáveis e o restante é não satisfatório (gráfico n.º9).

Em relação à salada de cenoura, e pelo motivo já elencado, efectuou-se o mesmo tipo de análise, tendo-se verificado que do universo global analisado (66), 85% amostras são satisfatórias, 12% são aceitáveis e o restante é não satisfatório (gráfico n.º 10).

Gráfico n.º 9 - Apreciação das saladas de alface, segundo o Reg. n.º 2073/2005

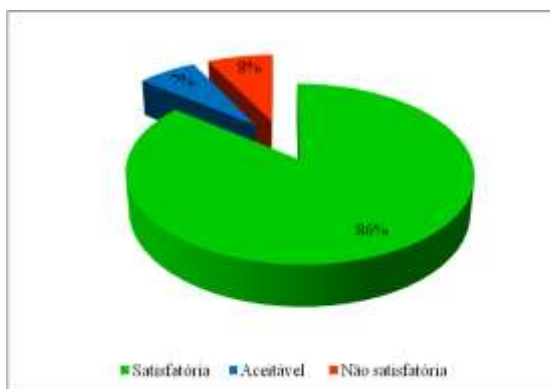
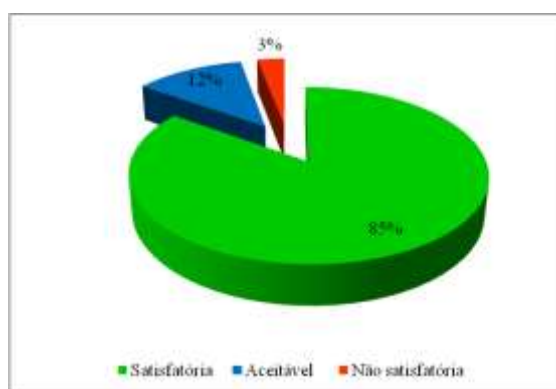


Gráfico n.º 10 - Apreciação das saladas de cenoura, segundo o Reg. n.º 2073/2005



### 3.1.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

#### 3.1.3.1. *Salmonella spp*

Não foi detectada a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras analisadas (80). Analisando os valores obtidos das amostras de salada de alface e de cenoura das duas empresas utilizadas no estudo, também não foi detectada em nenhuma das amostras, num universo de 199 amostras.

Resultado idêntico obteve Soriano *et al.* (2000) em alface servida em restaurantes universitários de Espanha. McMahon e Wilson (2001), pesquisaram a presença de *Salmonella* em vegetais frescos biológicos e minimamente processados, na Irlanda do Norte, e também não a detectaram (citado por Filipe, 2005).

Almeida (2006), ao pesquisar a presença de *Salmonella* em alface servida em restaurantes self-service no Brasil, também não a detectou num universo de 35 amostras.

Damasceno *et al.* (2002), avaliando as condições hígio-sanitárias de restaurantes tipo self-service, constataram a ausência de *Salmonella* nas amostras de saladas de vegetais crus analisadas.

Um estudo realizado em Portugal por Filipe (2005), de avaliação microbiológica a vários produtos hortícolas, não detectou a presença de *Salmonella* em nenhuma amostra analisada (45).

### 3.1.3.2. *Listeria monocytogenes*

Nas amostras de salada de alface e de cenoura analisadas, não foi detectada em nenhuma a presença de *Listeria monocytogenes*.

Analisando os valores obtidos das amostras de salada de alface e de cenoura fornecidos pelas empresas, foi detectada de *Listeria monocytogenes* na pesquisa em duas amostras de alface, no entanto, na sua quantificação obteve-se o resultado de  $<1,0 \times 10^2$ . No que respeita à salada de cenoura, na pesquisa foram detectadas 5 amostras positivas num universo de 66 amostras, mas na quantificação obtiveram-se resultados  $<1,0 \times 10^2$ .

Na Dinamarca (1999), foi realizado um estudo por Nörrung *et al.*, em que analisaram 350 amostras de vegetais cortados, nos quais constataram uma alta ocorrência de *Listeria monocytogenes*. De acordo com os limites estabelecidos naquele país, populações entre 10 e 100 ufc/g são consideradas não satisfatórias e  $> 100$  ufc/g não são aceitáveis. Do universo analisado, 23 % estavam em condições insatisfatórias.

No Brasil (2001), analisaram 101 amostras de alface e 149 amostras de outros vegetais, colhidos em diferentes épocas do ano. Os resultados revelaram baixa contaminação (3,2%) por *Listeria monocytogenes*, no entanto, o microrganismo foi detectado em amostras de alface, salsa e agrião.

Um estudo realizado em Portugal por Guerra e Bernardo (2001) a vários alimentos, dos quais 23 amostras eram saladas de vegetais, nomeadamente saladas com alface, pepino, azeitonas, tomate e cenoura, não detectaram a presença de *Listeria monocytogenes* nas amostras. No entanto, detectaram a presença de *Listeria* spp, em 4% das amostras analisadas.

Da mesma forma, Petran *et al.* (1998), nos Estados Unidos, também não detectaram *Listeria monocytogenes* em amostras de vegetais comercializados frescos ou congelados.

Na Índia, Pingulkar *et al.* (2001), analisaram 116 amostras de vegetais diversos, e não isolaram *Listeria monocytogenes* nas saladas prontas para o consumo humano.

Soriano *et al.* (2001 em Espanha), pesquisaram a presença de espécies de *Listeria*, em 40 amostras de alface, 20 das quais “*in natura*” e 20 prontas para consumo.

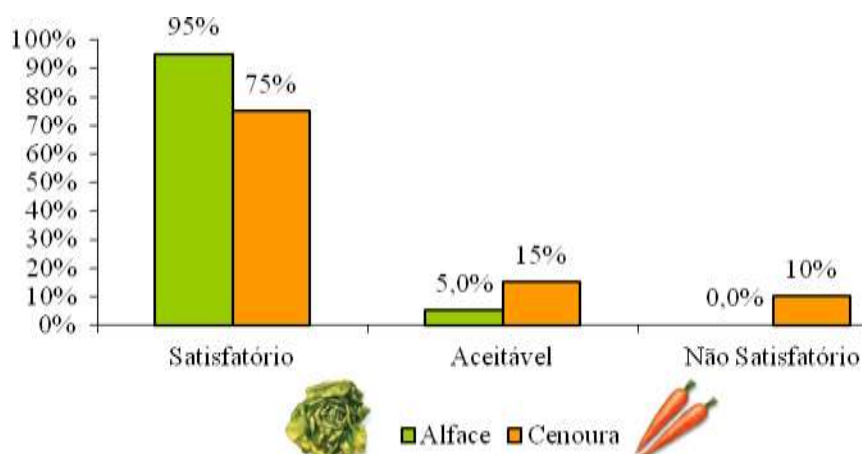
Os resultados revelaram uma frequência de 30 % de *Listeria grayi* e *ivanovii*, 20% de *Listeria seeligeri* e 10% de *Listeria monocytogenes* nas amostras de alface “*in natura*”. Nas amostras de alface pronta para o consumo, verificou-se a presença de *L. grayi* em 30%; *L. ivanovii* e *Listeria monocytogenes* em 10%.

Johnannessen *et al.* (2002), na Noruega, avaliaram 200 de amostras de diferentes tipos de alface e 100 amostras de saladas pré-cortadas, detectaram a presença de *Listeria monocytogenes* em uma amostra de alface (0,5%) e, nas saladas, o microrganismo não foi encontrado. Os pesquisadores sugerem que a ausência de *Listeria monocytogenes* em certos produtos pode ser atribuída ao pouco contacto da planta com o solo.

Amostras prontas para consumo também foram analisadas por Sagoo *et al.* (2003), no Reino Unido. Os resultados de ambos os estudos revelaram uma baixa ocorrência de *Listeria monocytogenes*, que variou entre 2,3 e 3% do total de amostras (2950 e 3853, respectivamente).

### **3.1.3.3. *Escherichia coli***

Do universo de saladas de alface analisadas, verifica-se que 95% (38) são satisfatórias e 5% (2) são legalmente aceitáveis. No entanto, em relação à salada de cenoura, foram observados 10% (4) de amostras não satisfatórias, 15% (6) aceitáveis e as restantes satisfatórias, conforme ilustrado no gráfico n.º 11.

Gráfico n.º 11 – Contagem de *E. coli* na salada de alface e de cenoura

#### 3.1.3.4. *Staphylococcus coagulase positiva*

Na pesquisa de *Staphylococcus coagulase positiva* observou-se resultados positivos em ambas as saladas (alface e cenoura) analisadas. Na salada de alface detectou-se a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* em 30% das amostras. No entanto, só 21% das amostras analisadas são não satisfatórias ou inaceitáveis, segundo os critérios seguidos, constantes nos valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de saladas, conforme ilustrado no gráfico n.º 12.

Num estudo realizado por Soriano *et al.*, em 2000, a alfaces servidas em restaurantes universitários em Espanha, detectaram a presença de *Staphylococcus aureus* em 25% das amostras analisadas (144), mesmo após o uso de soluções aquosas de hipoclorito sódico (70 ppm, 2 minutos) e de permanganato de potássio (25 ppm, 7 minutos) na lavagem da alface.

Palú *et al.*, em 2002 realizaram um estudo de avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas de restaurantes de self-service, no universo de 30 amostras analisadas, 16 (53%) estavam contaminadas com *Staphylococcus coagulase positiva*. Das 30 amostras apenas 15 eram de salada de alface, e destas 2 (13,3%) estavam não satisfatórias.

Estudo idêntico foi realizado no Brasil (2006), relativo à avaliação microbiológica de salada de alface em restaurantes self-service, o qual evidenciou a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* em 60% das amostras analisadas (35). Como a detecção deste microrganismo também não está prevista na legislação brasileira, foi

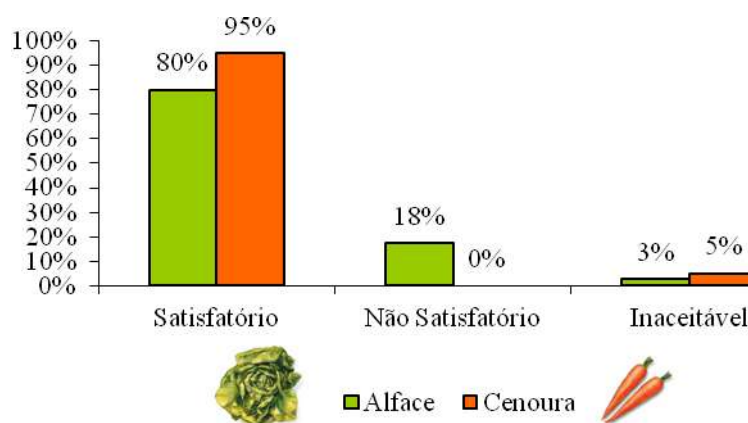
adoptada a especificação microbiológica baseada em padrões estabelecidos para hortaliças congeladas e similares de  $10^3$  ufc/g.

No entanto, num estudo realizado em Portugal em 2005 por Filipe, de avaliação microbiológica a vários produtos hortícolas, nomeadamente salsa, rúcula, rebentos de soja, canónigos, agrião e rebentos de luzerna, não foi detectado a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, em nenhuma das amostras analisadas (45).

Quanto à salada de cenoura detectou-se a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 5% das amostras analisadas, segundo os critérios constantes nos valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de saladas, conforme ilustrado no gráfico n.º 12.

Analisando os resultados obtidos nesta pesquisa, evidencia-se a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, podendo ser um indicador de manipulação excessiva e inadequada, além de manutenção do produto a temperaturas inadequadas por longos períodos de tempo.

Gráfico n.º 12 – Presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nas saladas de alface e de cenoura



### 3.1.3.5. *Enterobacteriaceae*

Embora a legislação em vigor, não contemple as *Enterobacteriaceae* como um parâmetro de avaliação microbiológica das saladas, optou-se por realizar esta contagem, por ser um bom indicador de higiene dos processos. Considerando-se que os resultados



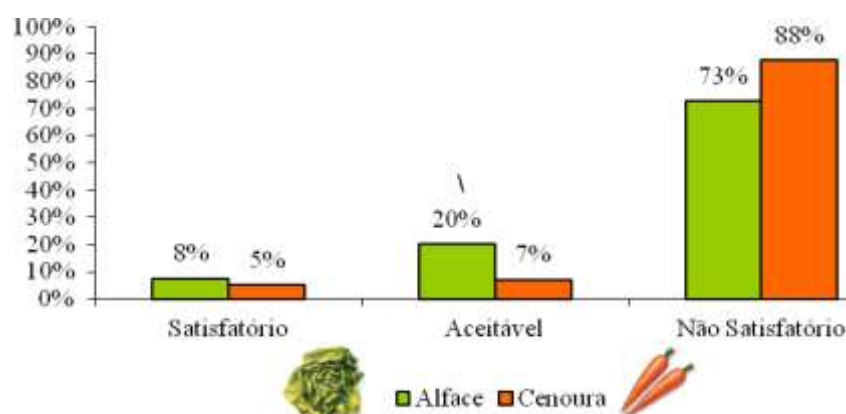
positivos indicam más condições higiénicas do local, do produto e consequentemente risco de presença de bactérias patogénicas.

Analisando os resultados obtidos na contagem de *Enterobacteriaceae*, nas saladas de alface e de cenoura, constatou-se que em ambas se obtiveram, contagens muito elevadas, no caso da salada de alface 73% são não satisfatórias, segundo os valores guia do INSA. De acordo com a mesma fonte, 88% das amostras analisadas da salada de cenoura são não satisfatórias, conforme ilustrado no gráfico n.º 13.

Num estudo realizado por Sagoo *et al.* (2003), no Reino Unido, de avaliação da qualidade de 2950 vegetais para o consumo pré-abertos, foi detectado a presença de *Enterobacteriaceae* em todas as amostras analisadas. Do universo analisado, 1638 (55,5%) amostras apresentavam valores  $> 10^3$  ufc/g. Apesar dos valores de *Enterobacteriaceae* encontrados neste estudo serem elevados, os investigadores justificam que altos níveis de *Enterobacteriaceae* em vegetais crus são comuns e não devem ser considerados como indicadores da qualidade microbiológica.

Apesar das conclusões tiradas pelos investigadores no estudo anteriormente relatado; da análise aos resultados obtidos das amostras alvo de estudo, há uma clara evidência de higiene insatisfatória no processamento do produto. Importa referir que a família das *Enterobacteriaceae* é muito vasta e contempla algumas bactérias patogénicas, constituindo um factor de risco para o consumidor.

Gráfico n.º 13 – Contagem de *Enterobacteriaceae* na salada de alface e de cenoura



### 3.1.3.6. Microrganismos totais a 30 °C

Analisando os resultados obtidos quanto ao teor de microrganismos totais a 30 °C obtidos, verifica-se que os valores oscilam entre  $10^4$  e  $10^9$  em ambos os produtos

analisados. Quanto aos resultados obtidos nas duas empresas, é impossível realizar uma análise coerente, pelo facto de que das 199 amostras utilizadas no estudo só 12% é que analisaram este parâmetro.

A contagem dos microrganismos totais, apesar de não ser um parâmetro fundamental como critério de segurança na avaliação das saladas cruas, é um bom indicador da higiene dos processos e principalmente do tempo de vida útil dos produtos.

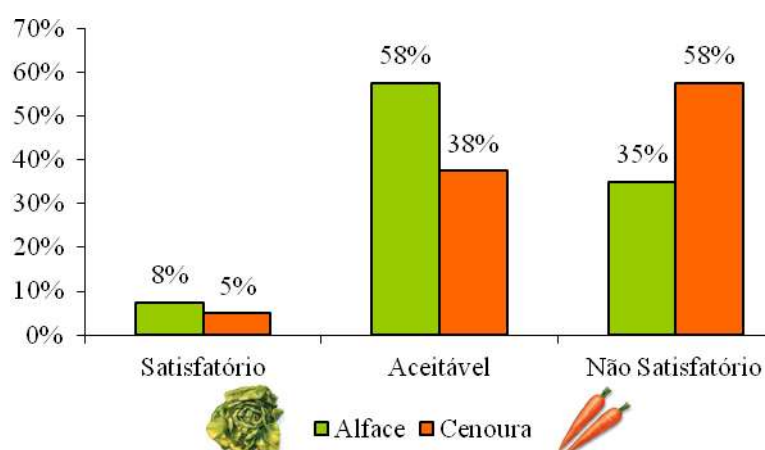
As microfloras banais ou de decomposição instalam-se nos alimentos ao longo de toda a cadeia, ou seja, durante os processos de produção, preparação, transformação, transporte, distribuição e armazenamento, constituindo cerca de 95% do total dos microrganismos instalados. Nas contaminações primárias, predominam após a preparação microfloras telúricas, cutâneas, fecais e aquáticas, em teores que oscilam entre  $10^2$  a  $10^5$  ufc/g, mas nos vegetais frescos chegam a atingir  $10^8$  ufc/g (Filipe, 2005).

Sob o ponto de vista qualitativo e quantitativo, os microrganismos presentes num dado alimento dependem, não só da contaminação microbiológica do produto fresco como de todos os procedimentos subsequentes, nomeadamente manipulação, condições de armazenamento, as quais devem retardar ao máximo a multiplicação microbiana. Este último aspecto é extremamente importante por questões de saúde pública e de conservação do produto. Alimentos crus, com contagens microbianas elevadas, são uma causa de alarme, dado que parte interna dos tecidos é geralmente estéril (Novais, 1998, citada por Filipe, 2005).

Uma percentagem significativa de vegetais, utilizados no consumo humano, perde-se devido a alterações causadas por microrganismos. Os principais agentes de alteração são as bactérias, bolores e as leveduras. Pela sua composição, baixos teores proteicos e de gordura, os vegetais apresentam processos de alteração diferentes, em que ocorre a degradação rápida dos açúcares, facto que favorece a acção das bactérias de alteração, como a espécie *Erwinia carotovora* que produz enzimas hidrolíticos (Filipe, 2005). Um potencial de oxidação-redução alto permite que os microrganismos aeróbios e os anaeróbios facultativos contribuam para os processos de decomposição (Novais, 1998; citado por Filipe, 2005).

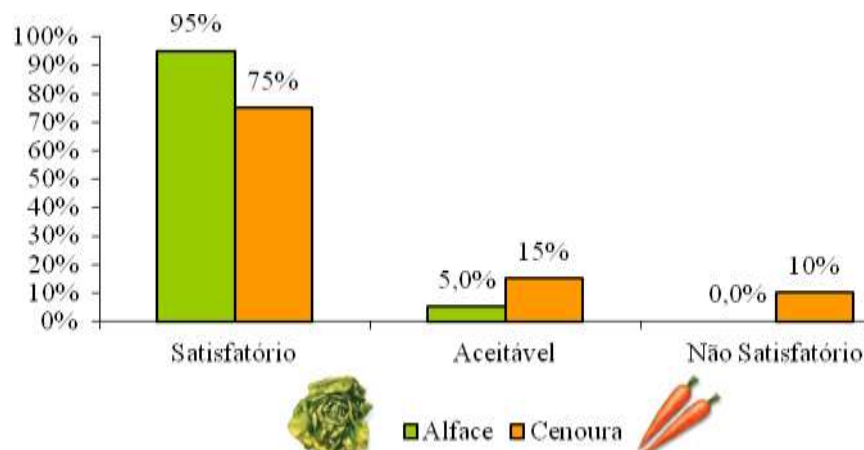
Observando-se os resultados obtidos nesta pesquisa, verifica-se que as amostras de alface e de cenoura analisadas apresentam valores elevados na contagem de microrganismos totais a 30 °C, respectivamente 35% (14) e 58% (23), que são não satisfatórios. Conforme ilustrado no gráfico n.º 14. Estes valores indicam uma elevada contaminação dos produtos para consumo, podendo atribuí-los a um produto com contaminação inicialmente elevada, procedimentos de higiene não satisfatórios e condições inadequadas de temperatura no acondicionamento após a higienização e durante o período de serviço.

**Figura n.º 14 – Contagem microrganismos totais a 30 °C na salada de alface e de cenoura**



Do universo de saladas de alface que contempla os parâmetros exigidos na legislação, obteve-se 100% das amostras de alface aptas para consumo; quanto à salada de cenoura obteve-se 90% das amostras aptas para consumo. Conforme ilustrado no gráfico n.º 15.

**Gráfico n.º 15 – Avaliação Microbiológica das Saladas**



### **3.2. RESULTADOS A INQUÉRITOS**

A realização de inquéritos a profissionais do sector da restauração pública, surge na sequência da análise dos resultados que se iam obtendo nas amostras alvo de estudo. O objectivo inicial era realizar os inquéritos aos manipuladores que desempenhavam as suas funções nas unidades que colaboraram na obtenção das amostras utilizadas no estudo, no entanto, optou-se por não realizar a estes profissionais por diversas razões, nomeadamente:

- Obtenção de resultados de um nicho muito restrito de profissionais
- Possibilidade de obtenção de resultados manipulados/falseados
- Respeito pelas unidades que colaboraram no estudo alvo

Assim, os dados foram obtidos pela realização de inquéritos a profissionais do sector da restauração pública, que frequentavam acções de formação em Higiene e Segurança Alimentar a decorrer quer em escolas de formação da área, quer em empresas de formação profissional, em alguns distritos do país.

O inquérito foi sempre realizado na primeira sessão da acção de formação, para que os dados não fossem influenciados pelos conhecimentos entretanto adquiridos no decorrer da acção de formação. Os inquéritos foram realizados durante um período de 36 meses, sempre nas mesmas condições, ou seja, na primeira sessão era solicitado a colaboração de todos os formandos para responderem ao inquérito, tendo sido explicado que os resultados obtidos eram, única e exclusivamente para serem utilizados numa dissertação de mestrado, e que se garantia o anonimato de todos os inquiridos.

De forma a facilitar a realização do inquérito, o mesmo foi distribuído a todos os formandos presentes nas acções de formação, no entanto dos 594 inquiridos, só 153 foram validados, uma vez que só estes é que correspondiam a actividades profissionais directamente relacionadas com o objecto de estudo, ou seja, cozinheiros ou ajudantes de cozinha a desempenharem funções na restauração pública.

#### É a primeira vez que frequenta uma acção em Higiene e Segurança Alimentar?

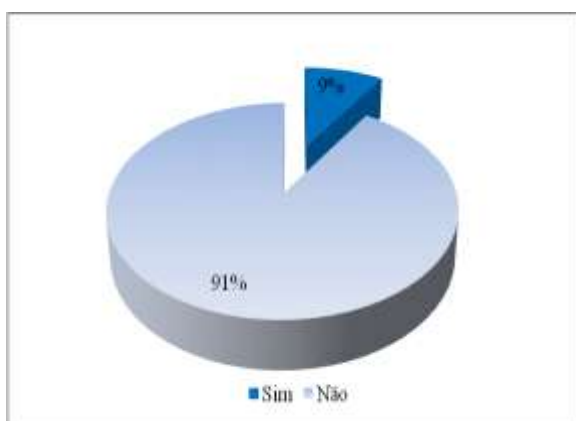
Do total dos profissionais que aceitaram este desafio só 9 % é que já tinham frequentado acções de formação em Higiene e Segurança Alimentar (gráfico n.º 16), este facto é muito representativo da situação global do país e em particular do sector alimentar, pois

não é possível esquecer que é obrigatório que todos os manipuladores de alimentos possuam formação adequada às funções que desempenham, em matéria de Higiene Alimentar, desde do ano de 1998 (Decreto-Lei n.º 67/98 de 18 de Março).

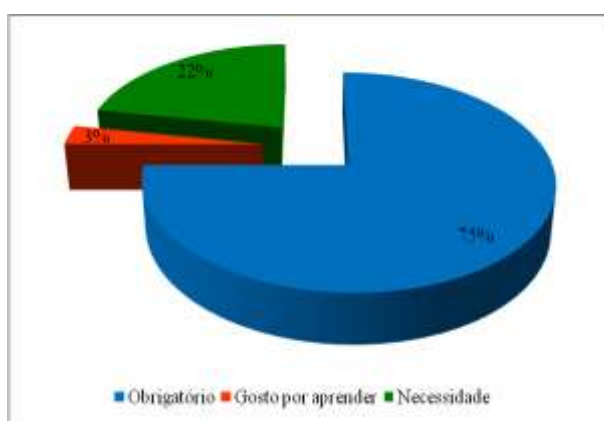
Se sim, qual o motivo da frequência na acção de formação?

Para aqueles que frequentavam pela primeira vez uma acção de formação, inquiriu-se o motivo da frequência na mesma, 75% responderam que a sua presença na acção de formação era de carácter obrigatório, 3% atribuiu a sua presença ao gosto por aprender e os restantes 22% por necessidade, conforme ilustrado no gráfico n.º 17.

**Gráfico n.º 16 – Formação em Higiene e Segurança Alimentar**



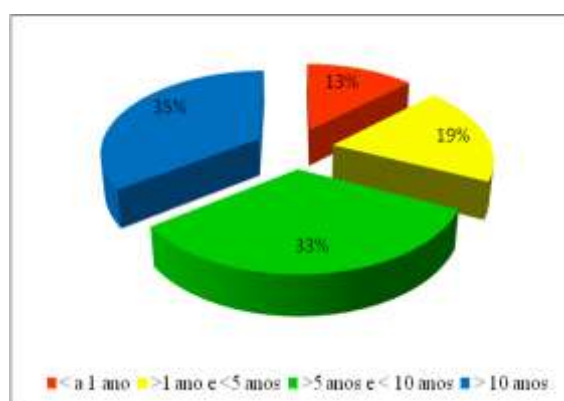
**Gráfico n.º 17 – Motivo da Frequência na acção de formação**



Tempo de actividade profissional na área onde exerce actualmente funções?

Outro factor analisado foi o tempo de actividade profissional na área. Este parâmetro é de extrema importância, uma vez que, quando o tempo em exercício em determinada função é relativamente curto (inferior a um ano), os mesmos ainda não sentiram necessidade de adquirir novos conhecimentos ou actualiza-los, pois só o que aprendem no dia-a-dia, já implica a aquisição “permanente” de novos conhecimentos. Curiosamente constatou-se que 68 % dos inquiridos trabalham na área alimentar há mais de 5 anos e só 13% trabalham há menos de 1 ano, conforme ilustrado no gráfico n.º 18.

**Figura n.º 18 – Tempo de actividade profissional na área onde exerce actividade actualmente**



Relacionando agora os três factores já analisados, conclui-se que 91% dos profissionais, apesar de trabalharem na área há vários anos, nunca tinha frequentado qualquer tipo de acção de formação em matéria de Higiene Alimentar. Frequentam a acção de formação por esta ser de carácter obrigatório e não como uma mais-valia em termos de aprendizagem/aquisição de novos conhecimentos, e consequentemente como uma forma de melhorar o seu desempenho na actividade profissional que exercem. É fundamental ressaltar que este é o espírito com que a maioria dos formandos inicia as acções de formação. Após a frequência na acção de formação os formandos têm outra atitude e consideram que a frequência em iniciativas desta natureza são importantes para o seu futuro.

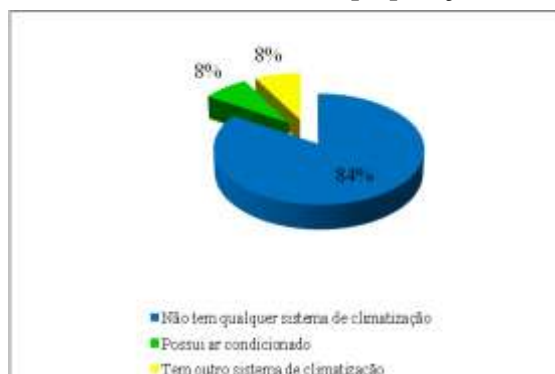
Na segunda parte do inquérito, foram realizadas perguntas fechadas, de âmbito técnico, tendo como objectivo obter dados sobre as condições de produção e distribuição das saladas, boas práticas de produção, monitorização de tempos e temperaturas de exposição e metodologias de controlo da Segurança Alimentar.

Quando questionados quanto às condições ambientais na preparação de saladas de vegetais crus, duas questões foram colocadas:

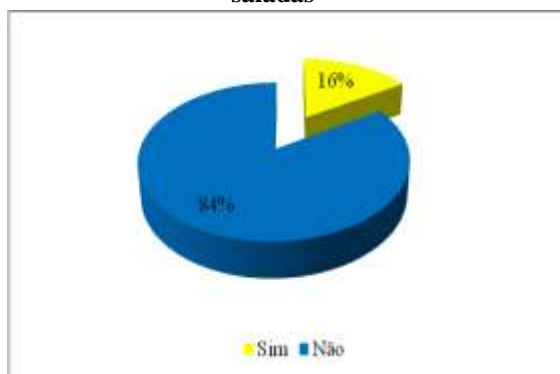
- ✓ As unidades de produção tinham sistemas de climatização?
- ✓ As unidades de produção tinham zonas isoladas de preparação de saladas?

Em 84% das situações analisadas constatou-se que as unidades não tinham nenhum tipo de climatização. Somente 16% afirmaram ter algum tipo de climatização, conforme ilustrado no gráfico n.º 19. Quanto à questão acerca das condições técnico – funcionais existentes para a preparação das saladas, ou seja, zona de preparação de saladas, apenas 16% dos inquiridos respondeu que possuíam, conforme ilustrado no gráfico n.º 20.

**Gráfico n.º 19 – Condições de climatização das cozinhas/zonas de preparação**



**Gráfico n.º 20 – Zona de preparação de saladas**



É interessante constatar que os 16% que responderam que possuíam sistema de climatização (8%) ou ar condicionado (8%), afirmaram também que tinham zonas isoladas de preparação de saladas de vegetais crus (16%).

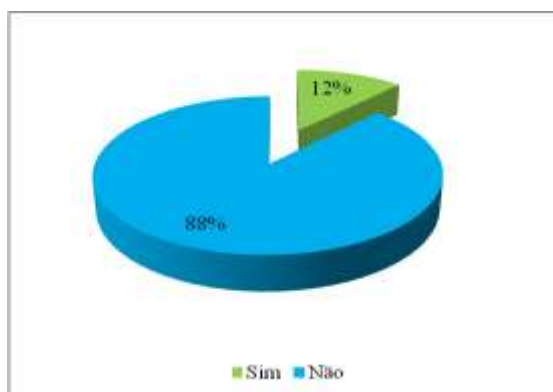
#### Utiliza vegetais minimamente processados?

Sobre a utilização de vegetais minimamente processados (produtos IV Gama) - Saladas, 12 % responderam que utilizavam, conforme ilustrado no gráfico n.º 21.

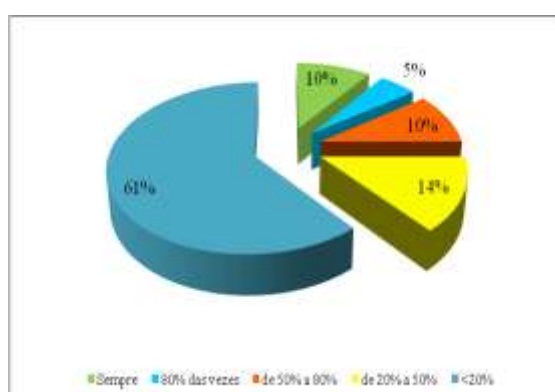
#### Se sim, com que frequência?

Dos que responderam responderam que utilizavam este tipo de produtos, só 10% é que afirmam que utilizam este tipo de saladas sempre, os restantes afirmam que utilizam este tipo de saladas em algumas situações, conforme ilustrado no gráfico n.º 22. De acordo com os inquiridos, as situações em que mais utilizam deste tipo de saladas, são em eventos especiais, com um elevado número de convivas.

**Gráfico n.º 21 – Utilização de vegetais (saladas) minimamente processadas**



**Gráfico n.º 22 – Frequência de utilização de (saladas) minimamente processadas**



#### Desinfectam os legumes que vão ser servidos no estado cru?

Aos inquiridos que afirmaram não utilizar este tipo de saladas (produtos IV Gama), questionou-se se desinfectavam os legumes (alface e cenoura) que vão ser servidos no estado cru. Dos 135 que tinham respondido que não utilizavam produtos minimamente processados, apenas 43 (32%) responderam que desinfectavam os vegetais para consumo “*in natura*”, conforme ilustrado no gráfico n.º 23.

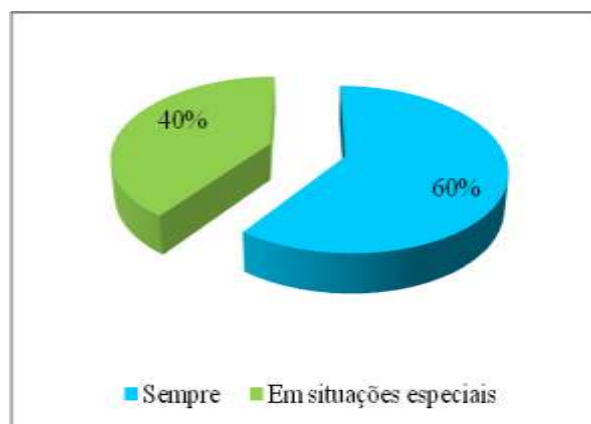
### Desinfectam com que frequência?

Em relação à frequência da desinfecção dos vegetais, somente 17 (40%) é que afirmaram que desinfectavam sempre, enquanto 26 (60%) respondeu que só desinfectava em situações especiais. Conforme ilustrado no gráfico n.º 24.

**Gráfico n.º 23 – Desinfecção dos legumes que vão ser distribuídos no estado cru**



**Gráfico n.º 24 – Frequência da Desinfecção dos legumes que vão ser distribuídos no estado cru**



As contaminações durante o processo de preparação e armazenagem dos géneros alimentícios sempre foram consideradas como umas das principais fontes da contaminação detectadas no produto final. Pelos motivos apresentados, considerou-se fundamental analisar como é que as saladas eram preparadas, se possuíam sistemas de manutenção de temperatura da cadeia de frio para as saladas preparadas, se são mantidas à temperatura adequada após a sua preparação, qual o tempo que medeia entre a preparação e a distribuição das mesmas e o seu destino (sobras) no final do serviço. Nesse sentido, realizaram-se as seguintes questões:

### Utilizam utensílios adequados para a preparação de saladas?

Este aspecto é de elevada relevância no âmbito do cumprimento das boas práticas de higiene e da segurança alimentar. Se habitualmente utilizam utensílios adequados para a preparação das saladas? Tábuas de corte e facas que respeitem o sistema de cores da segurança alimentar, como por exemplo tábuas de corte e facas com cabo de cor verde, para a preparação de produtos hortícolas.

Do total de inquiridos somente 18% afirmaram que tinham utensílios específicos para a preparação de produtos hortícolas. Analisando estes dados, pode concluir-se que existe ainda um total desrespeito do cumprimento das regras basilares de higiene, uma vez que se utilizam os mesmos utensílios para a preparação dos diferentes tipos de alimentos,

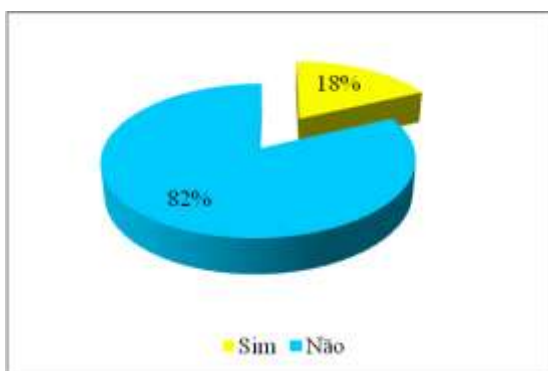


aumentando significativamente a probabilidade de ocorrências de contaminações cruzadas, como ilustrado no gráfico n.º 25.

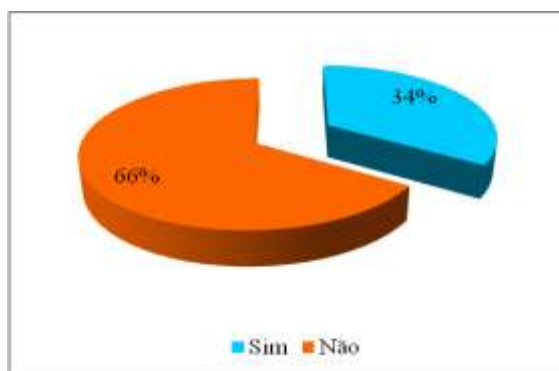
Possuem capacidade de manutenção a frio as saladas após a sua preparação?

Quanto a esta questão e quanto ao tipo de manutenção do frio que possuíam, 66% assumiu que não tinha capacidade frigorífica para as saladas após a sua preparação (gráfico n.º 26). Os restantes 34 % afirmaram ter capacidade de manutenção a frio com origem eléctrica para as saladas depois de preparadas.

**Gráfico n.º 25 – Utilização de tábuas de corte e facas específicas na preparação de saladas**



**Gráfico n.º 26 – Capacidade de manutenção a frio das saladas após a preparação**



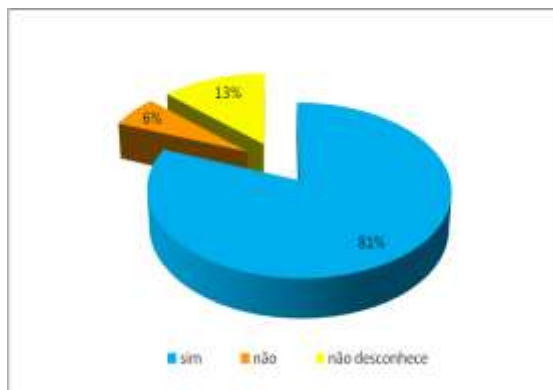
A manutenção a frio mantém uma temperatura  $\leq 5^{\circ}\text{C}$  até à sua utilização?

No âmbito da segurança alimentar a manutenção dos alimentos a temperaturas adequadas é basilar, devendo ser mantidos após a preparação a uma temperatura entre os  $0^{\circ}\text{C}$  e os  $+5^{\circ}\text{C}$  até ao seu consumo, nesse sentido aos inquiridos que responderam que possuíam capacidade de manutenção a frio para as saladas, foi questionado se o tipo de manutenção mantinha uma temperatura  $\leq 5^{\circ}\text{C}$  até à sua utilização. Do total de inquiridos, 88% respondeu afirmativamente, do que se conclui que é efectuada uma monitorização das temperaturas dos equipamentos de frio; 13% afirmou desconhecer, o que pode ser justificado por não ter no seu perfil de funções o controlo de temperatura e 6% respondeu que não. Em relação aos que responderam que não, esta percentagem é significativa, porque apesar de terem capacidade frigorífica, as saladas estão a temperaturas propícias à proliferação microbiana, como ilustrado no gráfico n.º 27.

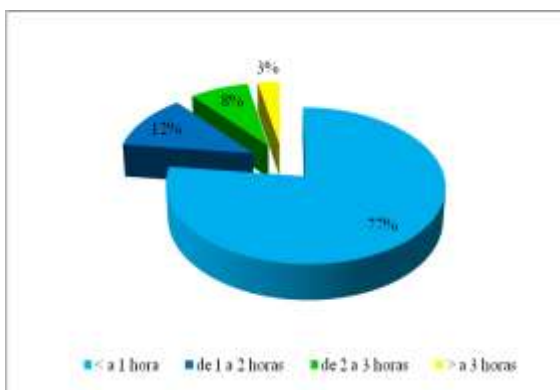
Qual o tempo que medeia entre a preparação das saladas e a sua utilização/distribuição?

Em relação a este aspecto, 89% respondeu ser inferior a 2 horas, 8% entre 2 – 3 horas e 3 % afirmou ser superior a 3 horas, conforme ilustrado no gráfico n.º 28.

**Gráfico n.º 27 – Manutenção a uma temperatura adequada ( $T \leq 5^{\circ}\text{C}$ )**



**Gráfico n.º 28 – Tempo que medeia entre a preparação das saladas e a sua utilização/distribuição**

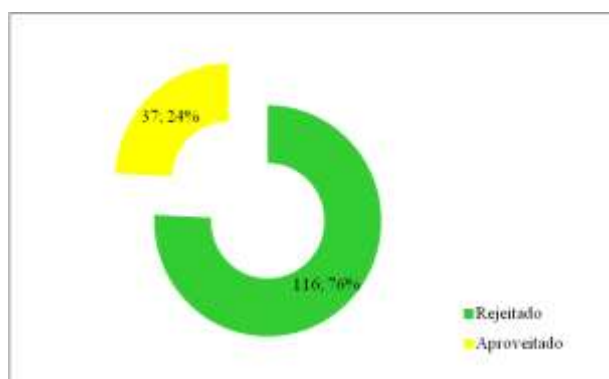


Qual o destino das saladas preparadas, no final do serviço?

Quanto ao destino das saladas preparadas sem tempero, no final do serviço, 116 (76%) afirmaram que eram rejeitadas e 37 (24%) responderam que eram aproveitadas, conforme ilustrado no gráfico n.º 29. Questionou-se qual o tipo de aproveitamento que era realizado, obteve-se vários tipos de respostas, a saber:

- ✓ Aproveitado para sopa (11)
- ✓ Aproveitado para o serviço seguinte (4)
- ✓ Não responderam (22)

**Gráfico n.º 29 – Destino das saladas preparadas no final do serviço**



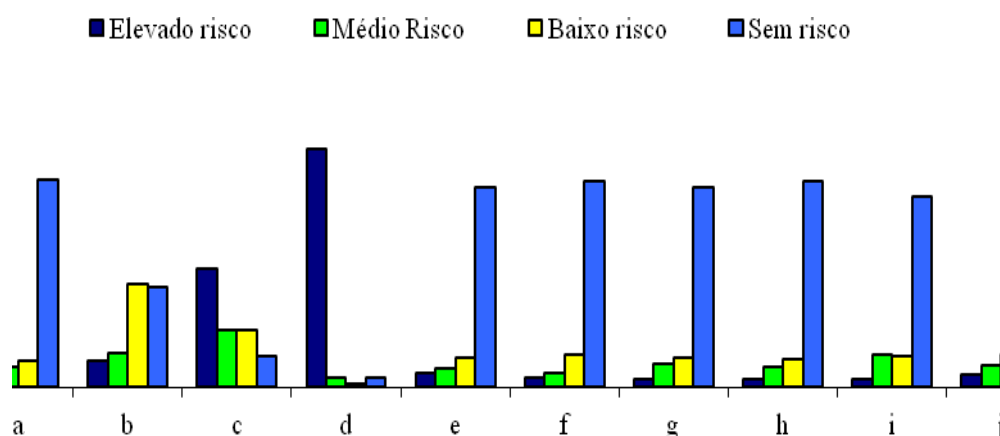
Como complemento a este questionário foram realizadas algumas questões fechadas, de opinião, com o objectivo de obter dados sobre a percepção dos inquiridos, em relação ao risco que as saladas podem representar para a saúde pública.

Nesse âmbito, foram colocadas para avaliação, diferentes tipos de saladas e foi solicitado aos inquiridos que avaliassem o tipo de saladas/ produtos apresentados quanto ao risco que as mesmas podem representar para a saúde pública, em:

- Elevado Risco
- Médio Risco
- Baixo Risco
- Sem Risco

Os resultados obtidos podem ser analisados no gráfico n.º 30.

**Gráfico n.º 30 – Avaliação do risco de vários tipos de saladas/produtos utilizados na preparação de saladas**



**Legenda:**

- a – Saladas de vegetais sem tempero para utilização no período de refeição
- b – Salada de vegetais sem tempero preparadas com antecedência
- c – Saladas compostas com produtos de origem animal
- d – Saladas simples com adição de maionese
- e – Alface
- f – Cenoura
- g – Rúcula
- h – Rabanetes
- i – Salsa/coentros
- j –Tomate

Analisando as respostas obtidas constata-se que a maioria dos inquiridos têm um total desconhecimento dos riscos associados às saladas, considerando apenas como factor de risco a existência de maionese e/ou de produtos de origem animal, sendo ignorados

todos os outros factores de risco que os produtos hortícolas *in natura* podem representar.

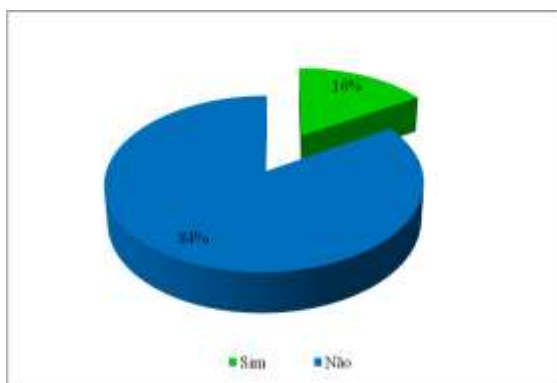
Se têm implementado um sistema de Segurança Alimentar, baseado nos princípios do HACCP?

Com o intuito de efectuar uma análise global às respostas obtidas, questionou-se quem tinha implementado um sistema de Segurança Alimentar, baseado nos princípios do HACCP. Do total de inquiridos, só 16 % é que responderam que afirmativo, conforme ilustrado no gráfico n.º 31.

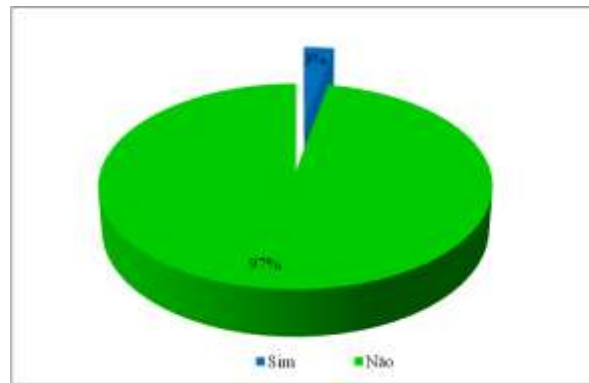
Realizam controlo analítico das saladas?

Quanto a esta questão da existência de algum controlo analítico laboratorial das saladas (alface e cenoura) produzidas e distribuídas nas unidades, somente 3% dos inquiridos é que afirmaram que sim, o que corresponde a 4 de um total de 153, conforme ilustrado no gráfico n.º 32.

**Gráfico n.º 31 – Sistema de Segurança Alimentar**



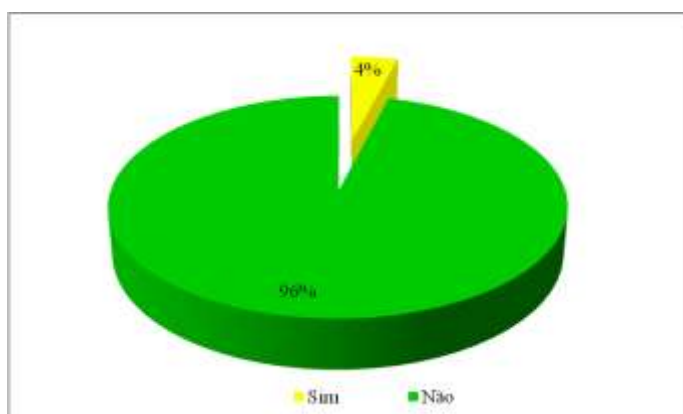
**Gráfico n.º 32 – Controlo analítico das saladas produzidas e distribuídas nas unidades**



Realizam a recolha de amostras testemunho?

Também se considerou conveniente ter o conhecimento de quantos inquiridos recolhiam amostras testemunho, a fim de serem utilizadas em caso de suspeita de toxinfecção alimentar. Das 153 respostas analisadas, só 6 responderam que tinham como rotina a recolha de amostras testemunho, o que corresponde a 4%, conforme ilustrado no gráfico n.º 33.

**Gráfico n.º 33 – Recolha de amostras  
testemunhas de saladas**



Analisando conjuntamente as três últimas questões, verifica-se que num universo de 153 unidades, apenas 25 têm um sistema de controlo, baseado nos princípios do HACCP. De realçar que o mesmo é obrigatório desde da entrada em vigor do Reg. n.º 852/2004 de 29 de Abril. Por outro lado, dos 25 inquiridos que afirmaram ter um sistema de controlo, só 3% é que realiza controlo analítico às saladas. Salienta-se que o mesmo diploma legal, obriga a que sejam efectuadas recolhas de amostras e análises. Nesse sentido, poder-se-ão tirar duas conclusões possíveis, a primeira é que será realizado controlo analítico a outro tipo de produtos que não a saladas; outra é que as empresas de consultadoria recomendam, mas os operadores económicos não estão dispostos ou não conseguem a assumir esse custo. Em relação à recolha de amostras testemunhas é no mínimo curioso que 96% não tenha esse procedimento implementado, uma vez que o mesmo deve ser encarado como uma prova em caso de suspeita de toxinfecção alimentar.

Por último, foi realizada uma pergunta aberta, de opinião, pretendendo-se obter dados sobre os principais cuidados e preocupações que têm com a preparação das saladas (alface e cenoura). De salientar que 60% dos inquiridos não respondeu a esta pergunta, dos que responderam a maioria afirmou que tinha alguns cuidados, nomeadamente:

- ✓ Aquisição de produtos frescos e de boa qualidade
- ✓ Armazenamento os produtos no frio, logo à recepção
- ✓ Preparação as saladas só no dia de utilização
- ✓ Lavagem cuidadosa dos vegetais
- ✓ Lavagem e desinfecção dos vegetais
- ✓ Lavagem as mãos antes da preparação das saladas
- ✓ Observação dos vegetais para detecção de bichos

## CONCLUSÕES

É reconhecido que nos dias de hoje, as saladas deixaram de ser uma simples entrada ou apenas um acompanhamento do prato principal; e que o crescente consumo deste tipo de material vegetal, associado a um novo paradigma de dietas saudáveis e pouco calóricas, torna o tema de grande relevância para a qualidade e segurança alimentar.

Uma alimentação equilibrada e variada trás harmonia e equilíbrio para o nosso organismo, e nesse sentido é importante incluir saladas no cardápio, pois são ricas em nutrientes que ajudam a melhorar o funcionamento do nosso organismo e são de fácil e rápida digestão. No entanto, as saladas cruas são alimentos que apresentam um alto risco de contaminação microbiológica, e por isso podem representar um risco significativo do prato ao prato, se não forem aplicadas as medidas de controlo adequadas durante o seu processamento e preparação.

Dada a relevância e actualidade deste tema, o objectivo da realização deste trabalho de tese de mestrado foi a avaliação microbiológica de saladas servidas na restauração pública. Nesse âmbito, foram analisadas 80 amostras de saladas de alface e cenoura; a escolha destes vegetais recaiu por serem os mais utilizados na base das mais variadíssimas saladas. De modo a obter-se um universo mais abrangente de amostras, utilizaram-se os resultados analíticos de 2 empresas de consultorias, perfazendo 279 de amostras de saladas.

Os parâmetros analisados neste trabalho prático foram como critérios de segurança, *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes* e como critérios de higiene, *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, contagem de *Enterobacteriaceae* e microrganismos totais a 30 °C. Como exposto anteriormente, e de acordo com a legislação em vigor relativa aos critérios microbiológicos não era necessário contemplar como indicadores de higiene, todos estes parâmetros. No entanto, considerou-se indispensável contemplar estes indicadores, uma vez que são fundamentais na avaliação da qualidade da preparação, das condições técnico-funcionais e do próprio produto.

Relativamente ao trabalho prático desenvolvido, 73% das amostras de salada de alface e 88% da salada de cenoura foram consideradas não satisfatórias, no entanto não foram detectadas bactérias patogénicas.

Com o objectivo de aumentar o universo de amostragem foram utilizados dados de duas empresas de consultadoria, contudo não foi possível estabelecer a relação e avaliação esperada, por falta de coesão nos parâmetros analisados. Nesse sentido, só foi possível realizar uma avaliação de acordo com a legislação em vigor (Regulamento n.º 2073/2005), das quais, 94% (173) das amostras de alface e 94% (106) das amostras de cenoura são aptas para consumo.

Analisando os resultados obtidos no controlo analítico e no inquérito realizado, conclui-se que ainda há um longo caminho a percorrer até se atingir a tão desejada segurança alimentar no sector em causa.

De acordo com alguma bibliografia consultada, concluiu-se que um dos factores mais relevantes para a ocorrência de doenças infecciosas de origem alimentar são as contaminações cruzadas, devido a manipulações inadequadas, preparações efectuadas com muita antecedência, armazenagem à temperatura ambiente e manipuladores infectados. Factores igualmente importantes são as infraestruturas e condições técnico-funcionais da generalidade das cozinhas, ainda hoje, continua-se a verificar graves deficiências, nomeadamente no que concerne aos circuitos, condições de preparação, condições de conservação e armazenagem, o que sem dúvida é um obstáculo ao cumprimento das BPH e consequentemente à segurança alimentar. Os resultados dos inquéritos apontam nesse mesmo sentido, pois revelam que os inquiridos possuíam um total desconhecimento dos riscos que as saladas podem representar e do cumprimento das boas práticas de higiene basilares para a qualidade e segurança alimentar.

Por outro lado, o sistema HACCP é um método científico e documentado, que permite uma gestão da segurança alimentar quando bem implementado, através de uma análise dos potenciais perigos e gestão dos mesmos, no entanto, os factores de segurança alimentar precisam ser aplicados ao longo de cadeia alimentar. A obrigatoriedade de implementar o sistema de segurança alimentar baseado nos princípios do HACCP, veio

melhorar significativamente as condições de produção, no entanto, a base está no cumprimento das boas práticas de higiene e produção (programa de pré-requisitos).

Concluiu-se com a realização deste trabalho que as saladas prontas a comer disponíveis, apresentam uma qualidade microbiológica não satisfatória. De forma a melhorar a qualidade e segurança das saladas servidas na restauração pública, é fundamental que os operadores económicos mudem de atitude, tenham consciência dos riscos associados às mesmas, reforcem a necessidade do controlo microbiológico deste tipo de produtos, utilizem técnicas que diminuam para níveis não nocivos a carga microbiana, possuam formação qualificada e cumpram as boas práticas de higiene e os procedimentos técnicos e operativos do sistema HACCP.



Almeida, M.T.T. (2006). Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) em restaurantes self-service no Município de Limeira – SP (pág. 30 -45) (Tese de Mestrado). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Brasil.

Amorim, J., Novais M. R. (2012). *Guia para controlo da segurança alimentar em restaurantes europeus*.

Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Laboratório de Microbiologia dos Alimentos.

Araújo, M.S. análise microbiológica de saladas servidas em restaurantes de Pombal – PB (pág. 50 – 53) (Tese de Mestrado). Universidade Federal de Campina Grande, Brasil.

ARESP (2006). Associação de Restauração e Similares de Portugal. *Higiene e segurança alimentar: código de boas práticas para a restauração pública*. Lisboa: ARESP.

ASAE (2009). Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal. Lisboa. Ministério da Economia e Inovação.

Baptista, P., Venâncio, A. (2003). Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. 1ª Edição. Forvisão. Guimarães.

Bean, N. H. et al. 1997. Surveillance for foodborne disease outbreaks. World Health Statistics Quarterly, 41.

Bernardo, F. (2006), “Perigos sanitários nos alimentos”, *Segurança e Qualidade Alimentar*, Nº1, pág. 6-8.

Bolton, D.J., Maunsell, B. (2004). Guia para Controlo da Segurança Alimentar em Restaurantes Europeus.

Brandão, C. (2002). Gestão de Riscos Sanitários em restauração e hotelaria. Congresso de Ciências Veterinárias - 100 anos da SPCV, pág.1-10.

Breda, J. (2004). Saúde Pública ao Centro. Boletim do Centro regional de Saúde Pública do Centro N.º0 pag.7.

CAC, *Report No CAC/GL 21-1997 - Principles for the establishment and application of microbiological criteria for foods*. Codex Alimentarius Guidelines, 1997.

CAC (1999). Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment (CAC/GL-30).

CAC (2003). Recommended International Code of Practice: General Principles of Food Hygiene (CAC/RCP 1-1969, Rev. 4).

Carvalho, A.C.F.B., Cortez, A.L.L., Salotti, B.M., Bürger, K.P. & Vidal-Martins, A.M.C. (2005). Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em

diferentes amostras de produtos avícolas. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, V.72, n.3, p.303-307.

Carvalho, L.R. (2012). Mapeamento de riscos microbiológicos no processamento produtivo de carne bovina (Tese de Pós-Graduação). Universidade Federal Fluminense, Brasil.

*Codex Alimentarius* Commission (2003), Recommended International Code of Practice: General Principles of Food Hygiene, CAC/RCP 1-1969, Rev. 4.

Correia C. (2013). Boletim Epidemiológico. Investigação Laboratorial de toxinfecções alimentares, pág. 3-5.

Damasceno, K.S.F. da S.C.; Alves, M.A.; Freire, I.M.G.; Torres, G.F.; Ambrósio, C.L.B.; Guerra, N.B. Condições sanitárias de self-service no entorno da UFPE e de saladas cruas por eles servidas. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 16, n.º 102/103, pág. 74-78, nov/dez 2002.

Decreto-Lei nº 67/98 de 31 de Dezembro. Diário da República nº 65 – Série I – A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Decisão da Comissão Europeia de 28 de Abril de 2008 que altera a Decisão 2002/253/CE que estabelece definições de casos para notificação de doenças transmissíveis à rede comunitária ao abrigo da Decisão nº 2119/98/CE do Parlamento Europeu e do Conselho. Europeias, Comissão das Comunidades. Decisão da Comissão, s.l. : Jornal oficial da União Europeia, 2008.

European Food safety Authority - European Centre for Disease Prevention and Control. *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses*, s.l. : EFSA Journal, 2012. 10(3):2597.

European Food Safety Authority - European Center for Disease Prevention and Control. *The European Union Summary report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009*. s.l. : European Food Safety Authority, 2011.

FAO/WHO (2003). 8th Report of the WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe (1999-2000). Country Reports: Portugal.

FAO/WHO (2004). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: Technical report. FDA/CFSAN. (1992). Bad Bug Book.

Farber, J.M.; Sanders, G.W.; Johnston, M.A. (1989). A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *Journal of Food Protection*, pág. 52, 456-458.

Filipe, L.M. (2005.) Aspectos da microbiologia de vegetais para consumo em fresco. (Tese de Mestrado). Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Portugal.

Forsythe, S. J. and Hayes, P. R. *Food Hygiene, microbiology and HACCP, Third Edition*. Gaithersburg, Maryland : Aspen Publishers, Inc., 1998.

Forsythe, S.J. (2002). Microbiologia da Segurança Alimentar. Artmed, Porto Alegre, Brasil.

Framegas, D.P.D.F. (2012). Impacto da contaminação dos alimentos prontos a comer na saúde pública (Tese de Mestrado). Universidade de Aveiro, Portugal.

Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M.. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo; Atheneu, 1998. 182p.

Gaze, J. (2002). Microbiological aspects of thermally processed foods. J. Appl. Microbiol., pág. 98, 1381-1386.

Gonçalves, S.L.S.G.P. (2012). Avaliação microbiológica de produtos prontos a consumir. pág. 7 (Tese de Mestrado). Escola de Hotelaria e Turismo do Estoril, Portugal.

Guerra, M. M., McLauchlin, J. e Bernardo, F. A. (2001) - *Listeria* in ready-to-eat and unprocessed foods produced in Portugal. Food Microbiol, pág. 18, 423-429.

Hayes, P.R. Microbiologia e higiene de los alimentos, Acribia, 1993, 369 pág. Zaragoza, Espanha.

Hill, M.M., Hill A. (1998). A Construção de um questionário. Dinâmica – centro de Estudos sobre a Mudança Socioeconómica.

Huxsoll e Bolin (1989). Minimally Processed Refrigerated Fruits &Vegetables. Champman &Hall, New York.

ICMSF (1996). Microbial Ecology of Foods: Vol. 2 Food Commodities. Academic Press, London.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1980). Microbial ecology of foods, Vol.I, Factors affecting life and death of microorganisms. Academic press, New York.

ISO 9000, NP EN ISO/IEC 9000 de 2000 – Gestão da Qualidade. International Organization for Standardization.

ISO 17025, NP EN ISO/IEC 17025 de 2005 - *Requisitos gerais de competência para laboratório de ensaio e calibração*. International Organization for Standardization.

ISO 6579 de 2002 – Regras gerais para pesquisa de *Salmonella spp*. International Organization for Standardization.

ISO 11290-2 de 2002 – Regras gerais para contagem de *Listeria monocytogenes*. International Organization for Standardization.

Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology* (6th ed.). Gaithsburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.

Jay, J.M. Microbiologia de alimentos. Tradução de E.C. Tondo *et al.* 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. pág. 711.

Junior *et al.* (2012). Perfil Parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self- service de Gurupi-to. Centro Universitário UNIRG, Brasil.

Jouve, J.L., Stringer, M.F., Baird-Parker, A.C. (1998). Food Safety Management Tools. ILSI Europe Risk Analysis in Microbiology Task Force, Brussels.

Livro Branco sobre a Segurança dos Alimentos.COM (1999) 719 final 2000.

Moreno, A.C.C. (2011), Implementação de sistema de segurança alimentar numa unidade de restauração (Tese de Mestrado). Instituto Politécnico de Bragança - Escola Superior Agrária, Portugal. pág. 197.

Morgado, A.S.J. (2007). Validação de limites críticos do plano HACCP e avaliação de risco microbiológico num estabelecimento de restauração (pág. 11-35) (Tese de Mestrado). Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, Portugal.

NP 1828 de 1982 – Microbiologia Alimentar – Colheita de amostras para análise microbiológica. IPQ, Lisboa.

NP 1829 de 1982 – Microbiologia Alimentar – Preparação da amostra para análise microbiológica. IPQ, Lisboa.

NP 4400 – 1 de 2002 – Regras gerais para contagem de *Estafilococos* coagulase positiva. IPQ, Lisboa.

NP 4396 de 2002 – Regras gerais para contagem de *Escherichia coli*. IPQ, Lisboa.

NP 4137 de 1991 – Regras gerais para determinação de *Enterobacteriaceae* sem revitalização e de contagem de colónias. IPQ, Lisboa.

NP 4505 de 2002 – Regras gerais para contagem de microrganismos a 30° C. IPQ, Lisboa.

Norrung, B., Andersen, J.K. e Schlundt, J., (1999). Incidence and control of *Listeria Monocytogenes* in foods in Denmark. International J. of Food Microbiol. pág. 53 195 – 203.

Notermans, S., Barendsz, A.W., Zeist, Rombouts, F. (2002). The evolution of microbiological risk assessment. Em Brown, M. e Stringer, M. (Eds.), Microbiological Risk Assessment in Food Processing. Woodhead Publishing, Cambridge.

Notermans, S., Nauta, M.J., Jansen, J., Jouve, J.L., Mead, G.C. (1998). A risk assessment approach to evaluating food safety based on product surveillance. Food Control, 9(4), 217-223.

Novais, M.R. (2006). Noções gerais de higiene e segurança alimentar. Boas práticas e pré-requisitos HACCP. Segurança e qualidade alimentar, pág. 10-11.

Passos, M.H. & Kuaye, A.Y. (1996). Avaliação dos surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas – SP no período de 1987 a 1993. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 56 (1): 77:82.

PETTRAN, R.L.; ZATTOLA, E.A.; GRAVANI, R.B. Incidence of *Listeria monocytogenes* inmarket samples of fresh and frozen vegetables. J. Food Sci., Chicago, v.53, n.4, pág.1238-1240, 1988.

Pinguilkar, K.; Kamat, A.; Bongirwar, D. Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: na evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. Int. J. Food Sci. Nutr., Basingstoke, v.52, pág.15-23, 2001.

Reforço, A. (2010). Segurança Alimentar no refeitório de uma escola secundária – estudo para implementação do HACCP (pág. 13 -49) (Tese de Mestrado). Universidade Aberta, Portugal.

Regulamento (CE) N.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro de 2002 que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. 2002, Jornal Oficial das Comunidades Europeias. 1-24.

Regulamento (CE) N.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 Abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios. Jornal Oficial das Comunidades Europeias. 1-23.

Regulamento (CE) N.º 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. 2005, Jornal Oficial da União Europeia. p. 1-26.

Regulamento (CE) N.º 1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. 2007, Jornal Oficial da União Europeia. pág. 12-29.

Santos, A.M.M.P.S. (2009). Implementação de um sistema de HACCP numa unidade de Restauração colectiva do exército português, pág. 15 (Tese de Mestrado). Faculdade de medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.

Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I: C., Saraiva, M. M., Novais, M. R. (2005). Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. Revista da Ordem dos Farmacêuticos 64: 66-69.

Santos, I., Cunha, I. (2011). Patogénicos emergentes em alimentos. *Segurança e qualidade alimentar*, Vol.2, pág. 10-13.

Soares E. (2007). Doenças de origem alimentar: Infecções e Intoxicações. Segurança e qualidade alimentar, n.º 2 pág. 6-8.

Sagoo, S.K., Little, C.L, Ward, L., Mitchell, R.T. (2003a). Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *Journal of Food Protection*, 66, 403-409.

Sagoo, S.K., Little, C.L, Ward, L., Mitchell, R.T. (2003b). Microbiological quality of open ready-to-eat salad vegetables: effectiveness of food hygiene training of management. *Journal of Food Protection*, 66, 1581-1586.

Soriano, J., Rico, H., Moltó, J., & Mañez, J. (2001). Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. *International of Food Microbiology*, 58, pp. 123-128.

W. Jongen (2002). Fruit and Vegetable Processing: Improving Quality (pág. 291). Published by Woodhead Publishing Abington Hall, England.

WHO – World Health Organization (2008). Cinco chaves para uma alimentação mais segura. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

#### Websites consultados:

<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/m10a.html> (consultado em 2008.02.20)

<http://www.dgs.pt/...dgs/...e.../circular-normativa-n-14dt-de-09102001-pdf.asp> (consultado em 2008.10.14)

<http://www.nutricaoimt.blogspot.pt/2012/toxinfeces-alimentares-colectivas.html> (consultado em 2008.11.20)

<http://www.foodsafety.gov/~comm/ift3-4a.html> (consultado em 2009.02.12)

<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/pprodgui.html>. (consultado em 2009.02.15)

<http://www.cms.ensp.unl.pt/dispositivos-de-apoio/cdi/cdi/sector-de-publicacoes/revista/2000-2008/pdfs/1-04-2004.pdf..html> (consultado em 2009.03.20)

<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/26465.pdf> (consultado em 2009.04.25)

<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/26465.pdf> (consultado em 2009.04.25)

<http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/zoonoses090506.htm> (consultado em 2009.10.20)

[http://www.icmsf.org/main/articles\\_papers.html](http://www.icmsf.org/main/articles_papers.html) (consultado em 2009.12.20)

[http://www.icmsf.org/main/articles\\_papers.html](http://www.icmsf.org/main/articles_papers.html) (consultado em 2009.12.20)

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/ucm183966.htm> (consultado em 2010.01.15)

<http://www.cecae.usp.br.html>. (consultado em 2012.08.08)

<http://www.afnor-validation.com/afnor-validation-validated-methods/validated-methods.htm> (consultado em 2012.08.24)

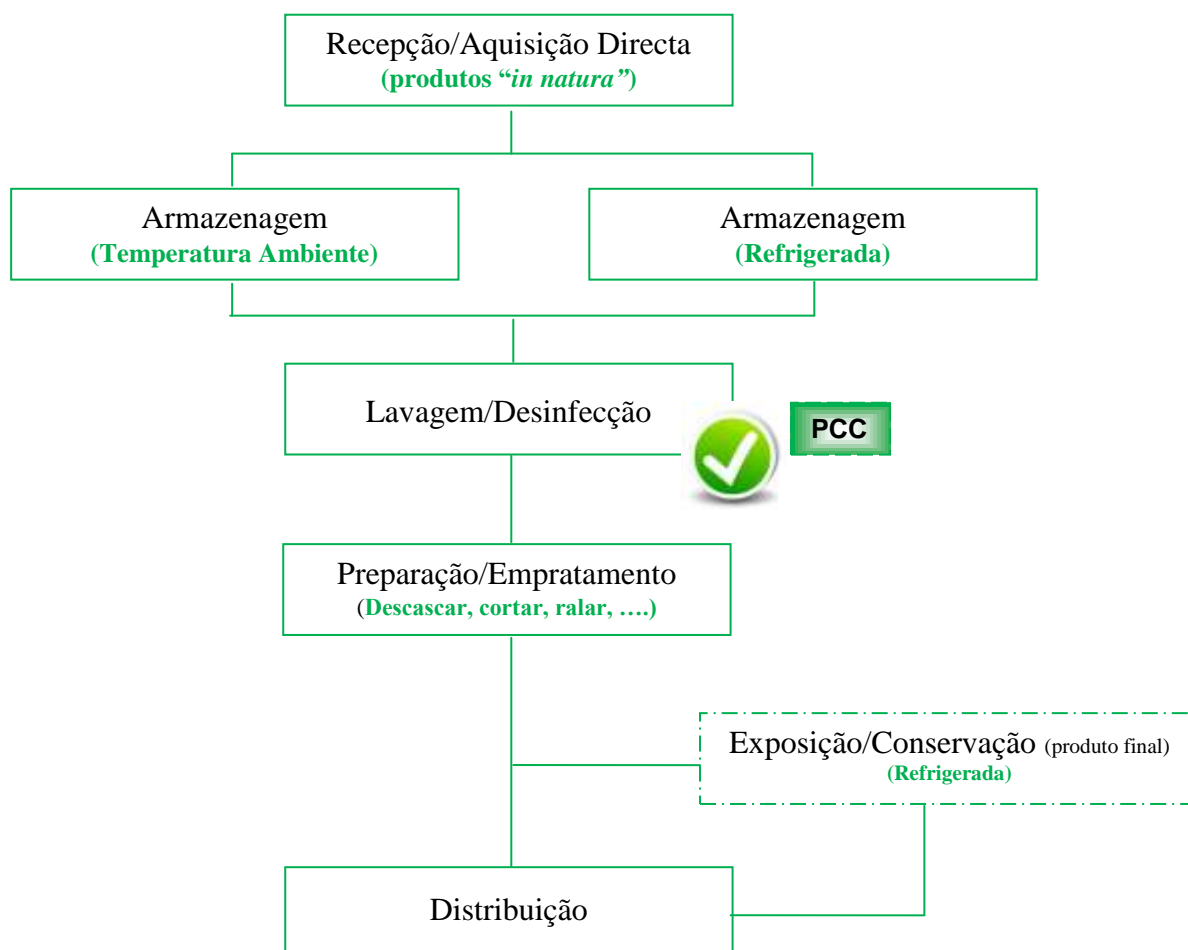
<http://www.ifst.org/site/cms.html>. (consultado em 2013.07.01)

<http://www.efda.europa.eu/en/aboutefsa.html>. (consultado em 2014.05.01)

<http://www.insa.pt.html>. (consultado em 2014.06.01)

<http://www.asae.pt/default.aspx>. (consultado em 2014.07.14)

<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/PublicacoesRepositorio/Documents/ObservacoesN62013 artigo1.pdf>. (consultado em 2014.07.21)

**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas****Anexo I A. Fluxograma****Observações:**

Etapas comuns

Etapas não comuns

**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas**
**Anexo I B. Análise de Perigos e Determinação dos PCC's**

ETAPA DO PROCESSO	PERIGO POTENCIAL		CAUSA	ANÁLISE DO RISCO			MEDIDAS DE CONTROLO	DETERMINAÇÃO DE PCC's				
				P	S	S/NS		Q1	Q2	Q3	Q4	PCC
Recepção	B	-Presença e proliferação microbiana (bactérias, fungos e parasitas).	-Más práticas de higiene e produção;  -Deficientes condições de higiene do veículo de transporte;  -Temperaturas de transporte inadequadas.	2	2	S	-Avaliação e selecção dos fornecedores; -Controlo de fornecedores;  -Controlo analítico das matérias-primas (solicitar o boletim analítico ao fornecedor);  -Controlo da qualidade à recepção; -Descartar as matérias-primas recepcionadas; - Formação dos trabalhadores.	S	N	S	S	-
	Q	-Presença de agentes/substâncias utilizadas na produção, transformação e transporte dos géneros alimentícios.	-Más práticas de higiene e produção; -Desrespeito pelos limites legais/intervalos de seguranças dos produtos utilizados.	1	2	NS	-Avaliação e selecção dos fornecedores;  -Controlo de fornecedores.	-	-	-	-	-
	F	-Presença de qualquer corpo estranho.	-Más práticas de higiene e produção;  -Má estiva e transporte.	1	1	NS	-Avaliação e selecção dos fornecedores; -Controlo da qualidade à recepção (inspecção visual).	-	-	-	-	-
Recepção (Temperatura ambiente)	B	-Presença e proliferação microbiana (bactérias, fungos e parasitas).	-Deficientes condições de higiene do veículo de transporte;  -Temperaturas de transporte inadequadas/excessivas;  -Embalagens em más condições de conservação/danificadas;  -Validade curta e/ou ultrapassada; -Más práticas do fornecedor.	2	2	S	-Avaliação e selecção dos fornecedores; -Controlo de fornecedores; -Controlo da qualidade à recepção; -Controlo analítico das matérias-primas (solicitação do boletim analítico ao fornecedor);  -Formação dos trabalhadores.	S	N	S	S	-
	Q	- Presença de agentes utilizados na produção, transformação e transporte dos géneros alimentícios.	-Más práticas de higiene e produção; -Desrespeito pelos limites legais/intervalos de seguranças dos produtos utilizados.	1	2	NS	-Avaliação e selecção dos fornecedores,  -Controlo de fornecedores.	-	-	-	-	-



**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas****Anexo I B. Análise de Perigos e Determinação dos PCC's (continuação)**

ETAPA DO PROCESSO	PERIGO POTENCIAL		CAUSA	ANÁLISE DO RISCO			MEDIDAS DE CONTROLO	DETERMINAÇÃO DE PCC's				
				P	S	S/NS		Q1	Q2	Q3	Q4	PCC
Recepção (Temperatura ambiente) - Continuação	F	-Presença de qualquer corpo estranho.	-Más práticas de higiene e produção; -Má estiva e transporte.	1	1	NS	-Avaliação e selecção dos fornecedores; -Controlo da qualidade à recepção (inspecção visual).	-	-	-	-	-
Aquisição directa (Temperatura ambiente)	B	-Presença e proliferação microbiana (bactérias, fungos e parasitas).	-Temperaturas excessivas de transporte;  -Deficientes condições de higiene do veículo de transporte; -Embalagens em más condições de conservação/danificadas; -Validade curta e/ou ultrapassada; -Más práticas do fornecedor.	1	2	NS	-Manutenção das condições de higiene do veículo utilizado no transporte; -Não efectuar o transporte nas horas em que se verifica maior calor; -Verificação rigorosa das condições do produto, integridade da embalagem e prazo de validade (quando aplicável); -Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
	Q	-Presença de agentes utilizados na produção, transformação e transporte dos géneros alimentícios.	-Más práticas de higiene e produção; -Desrespeito pelos limites legais/intervalos de seguranças dos produtos utilizados.	1	2	NS	-Seleção dos fornecedores credíveis.	-	-	-	-	-
	F	-Presença de qualquer corpo estranho.	-Más práticas de higiene e produção.	1	1	NS	-Avaliação e selecção dos fornecedores; Inspeção visual do produto.	-	-	-	-	-
Armazenamento (Refrigerados)	B	-Desenvolvimento microbiano;	-Deficientes condições de armazenagem /sectorização dos géneros alimentícios - contaminação cruzada;  -Más práticas de higiene e produção; -Incumprimento das regras de gestão de stocks - "FIFO" e/ou "FEFO"; -Deficientes condições de higiene dos equipamentos.	2	2	S	-Monitorização das temperaturas dos equipamentos de frio;  -Arrumação dos géneros alimentícios (por famílias), não ultrapassando a capacidade dos equipamentos; -Cumprimento dos procedimentos de higiene dos equipamentos (produto, dose e frequência); -Manutenção (preventiva) dos equipamentos de frio.	S	N	S	S	-

**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas**
**Anexo I B. Análise de Perigos e Determinação dos PCC's (continuação)**

ETAPA DO PROCESSO	PERIGO POTENCIAL		CAUSA	ANÁLISE DO RISCO			MEDIDAS DE CONTROLO	DETERMINAÇÃO DE PCC's				
				P	S	S/NS		Q1	Q2	Q3	Q4	PCC
Armazenamento (Refrigerados) - Continuação	B	- Contaminação cruzada.	-Quebra da cadeia de frio - Avaria/ mau funcionamento dos equipamentos de frio; -Presença /utilização de embalagens vindas do exterior; -Equipamentos sobrelotados - distribuição do frio não uniforme.	1	2	NS	-Correcta gestão de stocks - "FIFO" e/ou "FEFO"; -Verificação do correcto funcionamento dos equipamentos; -Cumprimento das Boas Práticas de Higiene e Produção (BPHP) e Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
	Q	-Contaminação por resíduos dos produtos utilizados na higienização.	-Desrespeito pelas doses recomendadas dos produtos utilizados; -Deficiente enxaguamento após higienização dos equipamentos.	1	2	NS	-Cumprimento das BPHP; - Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
	F	-Presença de qualquer corpo estranho.	-Más práticas de higiene e produção.	1	1	NS	-Cumprimento das BPHP; -Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
Armazenamento (Temperatura ambiente)	B	-Contaminação e desenvolvimento microbiano;  -Contaminação cruzada.	-Deficientes condições de armazenagem /sectorização dos géneros alimentícios - Contaminação cruzada; -Propagação de pragas; -Más práticas de higiene e produção; -Incumprimento das regras de gestão de stocks - "FIFO" e/ou "FEFO"; -Temperaturas inadequadas (excessivas).	2	2	S	-Arrumação dos géneros alimentícios (por famílias), não ultrapassando a capacidade dos equipamentos; -Correcta Gestão de Stocks - "FIFO" e/ou "FEFO"; -Respeito do controlo de pragas; -Cumprimento dos procedimentos de higiene dos equipamentos (produto, dose e frequência); -Formação dos trabalhadores.	S	N	S	S	-
	Q	-Contaminação por resíduos dos produtos utilizados na higienização.	-Desrespeito pelas doses recomendadas dos produtos utilizados; -Deficiente enxaguamento após higienização dos equipamentos.	1	1	NS	-Cumprimento das BPHP; -Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-

**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas**

## Anexo I B. Análise de Perigos e Determinação dos PCC's (continuação)

ETAPA DO PROCESSO	PERIGO POTENCIAL		CAUSA	ANÁLISE DO RISCO			MEDIDAS DE CONTROLO	DETERMINAÇÃO DE PCC's				
				P	S	S/NS		Q 1	Q 2	Q3	Q 4	PCC
Armazenamento (Temperatura ambiente) - Continuação	F	-Presença de qualquer corpo estranho.	-Más práticas de higiene e produção.	1	1	NS	-Cumprimento das BPHP;  -Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
Lavagem e Desinfecção	B	-Sobrevivência de microrganismos, toxinas e esporos.	-Utilização de desinfectantes (produto) não adequados; -Desrespeito pelo tempo de contacto e/ou dose de produto para a eficácia do procedimento; -Más práticas de higiene e produção.	2	3	S	-Utilização do produto adequado; -Cumprimento do procedimento de desinfecção; -Cumprimento das BPHP; -Formação dos trabalhadores.	S	S	-	-	PCC
	Q	-Contaminação por resíduos do desinfectante.	-Sobredosagem do desinfectante; -Deficiente enxaguamento.	1	2	NS	-Cumprimento do procedimento de desinfecção; -Formação dos trabalhadores.	S	S	-	-	PCC
	F	-Presença de qualquer corpo estranho.	-Más práticas de higiene e produção.	1	1	NS	-Cumprimento das BPHP; -Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
Preparação	B	-Contaminação e desenvolvimento microbiano;  -Contaminação cruzada.	-Desrespeito pelo procedimento de preparação de alimentos; -Manutenção dos alimentos à temperatura ambiente por períodos de tempo prolongados; -Más práticas de higiene pessoal; -Deficientes condições de higiene dos equipamentos e utensílios utilizados nas preparações.	1	2	NS	-Cumprimento do procedimento de preparação dos alimentos;  -Cumprimento das boas práticas de higiene pessoal e de manipulação dos alimentos;  -Formação dos trabalhadores e supervisão.	-	-	-	-	-
	Q	-Contaminação por resíduos dos produtos utilizados na higienização.	-Desrespeito pelas doses recomendadas dos produtos utilizados; -Deficiente enxaguamento após dos equipamentos/utensílios.	1	2	NS	-Cumprimento das BPHP;  - Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-

**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas**
**Anexo I B. Análise de Perigos e Determinação dos PCC's (continuação)**

ETAPA DO PROCESSO	PERIGO POTENCIAL		CAUSA	ANÁLISE DO RISCO			MEDIDAS DE CONTROLO	DETERMINAÇÃO DE PCC's				
				P	S	S/NS		Q1	Q2	Q3	Q4	PCC
Preparação - Continuação	F	-Contaminação por corpos estranhos.	-Mau estado de conservação dos equipamentos/ utensílios utilizados.	1	1	NS	-Cumprimento do plano de manutenção; -Cumprimento das BPHP.	-	-	-	-	-
Exposição/ Conservação	B	-Contaminação desenvolvimento microbiano;  -Contaminação cruzada.	-Deficientes condições de higiene dos equipamentos; -Avaria/mau funcionamento dos equipamentos de frio; -Equipamentos sobrelotados - frio não uniforme; -Produtos mal acondicionados (desprotegidos); -Más práticas de sectorização/arrumação dos produtos; -Períodos de conservação/exposição excessivamente longos; -Incorrecta gestão de stocks; -Más práticas de higiene e produção.	1	2	S	-Cumprimento dos procedimentos de higiene dos equipamentos (produto, dose e frequência); -Monitorização das temperaturas dos equipamentos de frio; -Arrumação/sectorização dos produtos, não ultrapassando a capacidade dos equipamentos; -Manutenção (preventiva) dos equipamentos de frio; -Correcta gestão de stocks - "FIFO" e/ou "FEFO"; -Verificação do correcto funcionamento dos equipamentos; -Cumprimento das BPHP; - Formação dos trabalhadores.	S	S	-	-	
	Q	-Contaminação por resíduos dos produtos utilizados na higienização.	-Desrespeito pelas doses recomendadas dos produtos utilizados; -Deficiente enxaguamento após dos higienização equipamentos/utensílios.	1	2	NS	-Cumprimento das BPHP; - Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
	F	-Contaminação por corpos estranhos.	-Mau estado de conservação dos equipamentos utilizados.	1	1	NS	-Cumprimento do plano de manutenção; -Cumprimento das BPHP.	-	-	-	-	-

**Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas**

Anexo I B. Análise de Perigos e Determinação dos PCC`s (continuação)

ETAPA DO PROCESSO	PERIGO POTENCIAL		CAUSA	ANÁLISE DO RISCO			MEDIDAS DE CONTROLO	DETERMINAÇÃO DE PCC's				
				P	S	S/NS		Q1	Q2	Q3	Q4	PCC
Distribuição	B	-Desenvolvimento microbiano e contaminação cruzada.	-Incumprimento das regras de higiene pessoal pelo colaborador;  -Manutenção dos alimentos (empratados) à temperatura ambiente por longos períodos de tempo;  -Deficientes condições de higiene dos utensílios utilizados.	1	2	NS	-Cumprimento dos procedimentos de higiene dos utensílios;  -Cumprimento das BPHP;  - Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
	Q	-Contaminação por resíduos dos produtos utilizados na higienização.	-Desrespeito pelas doses recomendadas dos produtos utilizados; -Deficiente enxaguamento após higienização dos equipamentos/utensílios.	1	2	NS	-Cumprimento das BPHP;  - Formação dos trabalhadores.	-	-	-	-	-
	F	-Contaminação por corpos estranhos.	-Mau estado de conservação dos utensílios utilizados.	1	1	NS	-Cumprimento do plano de manutenção; -Cumprimento das BPHP.	-	-	-	-	-

**Legenda:**

B – Biológico

Q – Químico

F – Físico

P – Probabilidade de ocorrência

S – Severidade

S – Significativo

NS – Não significativo

PCC – Ponto crítico de controlo

Q - Questão

## Anexo I. Exemplo de um plano HACCP a aplicar na preparação de saladas cruas

## Anexo I C. Plano HACCP

ETAPA DO PROCESSO	PCC	PERIGO POTENCIAL		MEDIDAS DE CONTROLO	LIMITE CRÍTICO	MONITORIZAÇÃO			ACÇÕES CORRECTIVAS	DOC. ASSOCIADOS
						MÉTODO	FREQUÊNCIA	RESPONSÁVEL		
Lavagem e desinfeção	PCC1	B	- Sobrevivência de microrganismos, toxinas e esporos.	- Cumprimento do Procedimento Operativo n.º 02.1 - Desinfeção de Vegetais e Fruta com Casca (MSA A II/PO XXX).	- 4 ml de produto - 5 l de água - durante 5 minutos	Cumprimento das instruções de utilização do produto.	Sempre que lavar e desinfetar os produtos hortofrutícolas.	Cozinheira	Cumprir o procedimento de desinfeção de acordo com a especificação do produto utilizado.	MSA A I/Reg. XXX
		Q	- Contaminação por resíduos da substância activa (desinfectante)							

**Anexo II. Questionário sobre “Saladas de Vegetais crus e o seu impacto na Saúde Publica”.****Dados do entrevistado**

Nome:.....

Função:.....

É a primeira vez que frequenta uma acção de formação em Higiene e Segurança Alimentar?

Não ☐Sim ☐

Se respondeu Sim, qual o motivo:

Obrigatório ☐Gosto por aprender ☐Necessidade ☐

Tempo de actividade profissional na área onde exerce actualmente funções:

Inferior a 1 ano ☐Superior a 5 anos mas inferior a 10 anos ☐Superior a 1 ano mas inferior a 5 anos ☐Superior a 10 anos ☐**1- Condições ambientais na preparação de saladas de vegetais.**

1.1 Condições de climatização das cozinhas/ zona de preparação.

Não tem qualquer sistema de climatização ☐Possui ar condicionado ☐Tem outro modo de climatização ☐**2 – Condições Técnico-funcionais na preparação das saladas.**

2.1 Tem zona de preparação de saladas?

Sim ☐Não ☐

2.2 Utiliza vegetais minimamente processados, ou seja, produtos IV gama (saladas)?

Sim ☐Não ☐

Se respondeu Sim:

Sempre ☐+ de 80% das vezes ☐De 50% a 80% das vezes ☐De 20% a 50% das vezes ☐Inferior a 20% ☐

2.3 Desinfecta os legumes (alface e cenoura) que vão ser distribuídos no estado cru? (responder só na situação de ter respondido Não à questão anterior).

Sim ☐Não ☐

Se respondeu Sim:

Sempre ☐Só em situações de eventos especiais ☐

2.4 Utiliza tábuas e facas específicas (ex. cor verde) na preparação das saladas?

Sim ☐Não ☐

2.5 Capacidade de manutenção a frio as saladas após a sua preparação?

Sim ☐Não ☐

Se respondeu Sim:

2.5.1 Se sim, que tipo de manutenção a frio possui:

Gelo ☐Eléctrico ☐2.5.2 O tipo de manutenção a frio mantém uma temperatura  $\leq 5^{\circ}\text{C}$  até à sua utilização?Sim ☐Não ☐Desconhece ☐

2.6 Qual o tempo que medeia entre a preparação das saladas e da sua utilização/ distribuição?

< a 1 hora ☐ De 1 a 2 horas ☐ De 2 a 3 horas ☐ > a 3 horas ☐

2.7 Destino das saladas (alface e cenoura) preparadas, no final do serviço.

Rejeitado ☐ Aproveitado ☐ para:.....

**Observações:**

**Perigo:** agente Biológico, Químico ou Físico num alimento (ou condição para a sua presença), que pode causar um efeito adverso para a saúde dos consumidores.

**Risco:** a função da probabilidade de um efeito adverso para a saúde dos consumidores e a severidade (gravidade desse mesmo efeito, em consequência da presença de um perigo no alimento.

(Codex Alimentarius)

**3. Percepção dos entrevistados, em relação ao risco para a Saúde Pública das Saladas de Vegetais Crus sem adição de tempero, podem representar para os consumidores.**

3.1 Classifique as seguintes saladas, de acordo com a seguinte grelha de classificação.

Classifique de 1 a 4, sendo

**1** Elevado Risco      **2** Médio Risco      **3** Baixo Risco      **4** Sem Risco

	Risco
Saladas de vegetais (alface e cenoura) sem tempero para utilização no período de refeição	
Saladas de vegetais (alface e cenoura) sem tempero preparadas com antecedência	
Saladas compostas com produtos de origem animal	
Saladas de vegetais simples com adição de maionese	
Alface	
Cenoura	
Rúcula	
Rabanete	
Salsa/Coentros	
Tomate	

**4. Sistemas de Controlo e Segurança Alimentar**

	Sim	Não
Tem sistema de Controlo, baseado na metodologia HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)		
Existe por rotina, algum controlo analítico laboratorial das saladas (alface e cenoura) que são produzidas e distribuídas?		
Existe colheita de amostras testemunhas de saladas (alface e cenoura), a fim de serem controladas em laboratório, em caso de surto de Toxinfecções Alimentares?		

**Questões Abertas**

5. Em termos de Segurança Alimentar, quais são as suas principais preocupações na produção e distribuição de saladas de vegetais crus, especialmente a de alface e de cenoura? .....

.....